蘭的繁殖法

王　博　仁
中央研究院研究員　臺灣大學植物系教授
邱　金　春
中央研究院研究助理員

Summary

Some orchids are difficult to germinate and some are difficult to propagate through tissue culture method. Seed germination method including symbiotic and asymbiotic method, pre and post treatment of difficult-to-germinate seeds, and asexual propagation by tissue culture methods were described in this chapter,

摘要：有些蘭種子是不易人工發芽而有些是不易組織培養繁殖的。在這裏我們介紹利用共生菌、無菌、和種子播種前後處理以促進人工發芽的方法，和組織培養無性繁殖的最新方法。

abbreviation

BA	6-benzyladenine
CM	coconut milk
2,4-D	2, 4-dichlorophenoxyacetic acid
IAA	indole-3-acetic acid
NAA	1-naphthaleneacetic acid
SHC	sodium hypochloride

前　言

蘭科植物有原種600屬，20000種，有記錄的交配種有數十萬種，爲植物界最大的一族。傳統的無性繁殖法是分株法，如嘉德麗雅蘭，蕙蘭等須2～3年才多出一株，這些蘭分株容易，很少失敗。單莖類的蝴蝶蘭每隔2～3年從很小的節間，用線鋸鋸開，分爲上下二體，如植株情况不佳，其中會有一體死亡，便等於沒有繁殖；如上下二體皆亡，反而血本無歸。無性繁殖法能够繁殖一模一樣的個體，除非特別好運，不能得到變異種，喜歡育出新種的人不能利用此法來繁殖。蘭種子（科學上的名詞應該是初期胚），直到大英帝國還在稱霸全世界的十九世紀初尙無法人工發芽，後來發現蘭根與蘭菌（mycorhiza），共生關係，便想到種子的發芽也靠蘭菌的幫助。種子播在用紗布包好的水苔上，上面又覆蓋一層紗布以防種子流失。置於母株旁邊，讓蘭菌有機會寄生，雖然發芽率極低，人工發芽終於成功。自從美國康乃爾大學 Knudson 氏發明無菌播種，使幾乎100%種子發芽成菌以後，共生菌的方法—除了特別古怪的愛蘭人士之外—已經乏人問津。自此交配育種突飛猛進，短短半個世紀便育出數十萬有紀錄的新種。但有些種屬到目前爲止人工發芽還是困難重重。

1960年法國植物病理學家 Morel 爲了想得到無病毒蕙蘭，由莖頂組織培養出無病毒新個體的同時，發現了試管內快速無性繁殖的方法。這方法很快的被各大學及研究所納入爲研究的主題，先後發展出各屬栽培種的無性繁殖方法公諸於世。私人蘭園也各自發展一套繁殖的方法，但方法大都秘而不

宜。著者等收集各種已發表論文報告，及自己研究室所研究出來的資料，加上與國內外學者或蘭業人員間交談的資料，綜合介紹最近的發展，發生的問題等，供學術界及蘭業界人士參考。在此，我們不談一些可以在各種刋物或教科書等看到的一般性資料，而只收錄介紹較為專門的部份。閱讀對象以具有專門知識的人士為主；如為初學者，應先參考一般的有關著作。

著者等認為本省蘭花的栽培，是一種極為有利的事業，尤其第一次能源危機之後，溫帶各國必須付出龐大的石油加溫費用。如能選出適合本省栽培的經濟品種，臺灣將是栽培蘭花最適合之地。尤其蕙蘭屬亞熱帶及溫帶性系統（俗稱國蘭），尚有無限的育種價值。這些工作必須動用最新的科學知識，始能達成。

有性繁殖法

㈠共生菌法（symbiotic germination）

蘭種子不含胚乳或子葉等營養貯藏器官，異於其他種子植物。蘭種子人工發芽成功是本世紀初的事，雖然早在1847（Reissek, 1847）年就已經瞭解蘭根有共生菌，但一直沒有人注意蘭種子的發芽必需依靠蘭菌的共生。直到1903年，Bernard 將分離的蘭菌處理嘉德利亞蘭的種子發芽成功之後，才知道蘭菌共生和種子發芽的關係。他假想共生菌提高實生苗的營養而促進種子發芽（Bernard, 1909）。

1909年 Burgeff 分離出各種根菌，而且發現蘭花營養的主要來源乃根菌的被消化。Bernard 及 Burgeff（1909）兩人，在沒有根菌的共生下以不同的營養組合作種子發芽試驗；發現僅有少數例子種子可萌芽；因此認為，一般的蘭花尤其是野生蘭，若沒有根菌之感染共生，種子不可能萌芽，植株生長速度極為緩慢。後來發展了共生菌播種法—即試管中同時接種蘭種子及根菌。但此技術較困難複雜，非一般栽培者所能使用，且成功的機率不高。

相反的，knudson 却致力於無菌播種法培養基之探求（Knudson. 1922, 1924），且成功地將許多不同蘭花種子，在簡單的含糖及微量元素培養基上萌芽。事實上，現在許多無菌播種成功的例子，都由此而來（Arditti, 1967, 1979）。此法將在下一單元詳加介紹。

1.蘭與蘭菌共生的概念

根菌之感染，簡單的說即蘭花的根細胞被一特定眞菌菌絲侵入，佔據根的皮層細胞。因為菌絲的繁殖，漸漸形成盤繞狀且多分枝的構造，成為細胞內的菌絲體；而後穿透細胞壁，再感染另一細胞，形成典型的菌絲束。

溫帶蘭根的木栓層細胞幾乎都有蘭菌的共生，其密度很高（圖一）；反之，熱帶蘭共生情形不如寒帶蘭那樣高密度。著生蘭和地生蘭之間也有差別，地生蘭的根一長出，便受蘭菌感染。溫帶性地生蘭根的發育，有季節性的週期，幾乎都在春天長出新根，這時蘭菌便馬上共生在新根上。蘭菌終會被蘭細胞消化，成為蘭所需的營養。能行光合作用的綠色細胞不被蘭菌感染(Hadley amd Williamson, 1972）還有些蘭的生長極為强壯的種類，常有不與蘭菌共生的情形。一般共生的情況下，蘭菌被老化的細胞消化而消失；但有些細胞是把蘭菌貯藏於自己細胞內，慢慢消化而把一些多醣類，脂肪或蛋白質等營養物貯存起來（Burgeff, 1959）。一些溫帶性的蘭種子，是在土層裡不見光的地方發芽。芽球形成時，可見皮層細胞裡擠滿了蘭菌；這些蘭菌被認為可能有一些代謝物，可促進根或葉的分化（Burgeff, 1959）。至於種子發芽與蘭菌共生間的關係，Downie（1940）做了很有意義的觀察。斑葉蘭（Goodyera）的種子有水就能發芽，但是如果在這個時候沒有蘭菌的共生，以後的發育就不會順利，甚至死亡。對於其他的蘭種，蘭菌不但促進發芽後芽球的形成和根葉的分化與生長，而且確有促進發芽的現象，但此兩種現象甚難分辯清楚。總之種子在含有較為豐富營養的地方，蘭菌的共生對發芽後的發育，就沒有什麼多大促進效果；反之，蘭菌就能發揮效果。至於對種子發芽有沒有促進作用？溫帶性蘭的種子發芽所須日數較久，或有因蘭菌共生而促進發芽的現象；但熱帶性蘭種子因較容

易發芽，恐無明顯之促進作用。蘭菌能够加水分解根外的炭水化合物成爲較簡單的分子，供蘭根吸收利用，這種現象曾以放射性炭和磷（^{14}C，^{32}P）爲標誌證明無誤（Smith, 1966）。

蘭菌的接種到底對栽培蘭花的人來說，是否有經濟價值呢？除了本世紀初蘭菌用來做幫助種子發芽之外，似無明顯的利益。有人認爲無菌播種或組織培養菌（均爲無蘭菌苗）移出管外時，如果先接種蘭菌，可以提高移植的存活率，但此說尚無定論。著者等發現蘭園裡盆栽的地生蘭（報歲蘭，素心蘭或東亞蘭等），有不少成株根裡找不到共生的蘭菌。是否盆栽蘭因過度使用殺菌農藥和肥料，而已將蘭菌消滅殆盡？

2.蘭菌的分離（Isolation of Fungus）

與蘭花共生的根菌（mycorrhiza）爲內生根菌之一種，大多數存在於野生蘭的根，地下莖或地下生的莖組織（underground stem tissue），尤其是後者靠土表面的莖組織含量最多。抽新芽期較開花期更適於分離蘭菌。將含有根菌的組織在自來水中洗去土粒，置於12倍或25倍之雙眼顯微鏡下，利用無菌的解剖針及解剖刀的刀鋒，挑出一至數條的眞菌菌絲，置入含有圜體或半固體分離培養基的培養皿中，培養於20±3°C。經過幾次的移植可得到純種培養，貯於冷藏庫中（Warcup, 1971,1973）。

表 1. 分離蘭菌的培養基

Tabie 1. Isolation medium (Clements 1979) for tungal cultures

Microelements	
Sodium nitrate, $NaNo_3$	0.3 g
Potassium phospate, KH_2PO_4	0.2 g
Magnesium sulfate, $MgSo_4 \cdot 7H_2O$	0.1 g
Potassium chloride, KCI	0.1 g
Complex additive	
Yeast extract (Difco)	0.1 g
Sugar	
Sucrose	5 g
Antibiotic	
Streptomycin sulfate	0.05 g
Water, distilled	to 1,000 ml
Solidifier	
Agar	10—11 g

3.人工發芽處理方法：

大約有400種的地生蘭原產於澳洲，被公認是極難發芽的一群，很難在無菌下萌芽。利用共生菌法則可以讓種子較快速發芽，且可以讓某些無法在無菌下發芽的地生蘭得到較好的結果（Warcup, 1971, 1973）。

培養體：成熟或未成熟種子。

減菌法：綠熟果（green capsule）先以淸潔劑輕輕刷洗，充分水洗後浸在10%漂白水中（10ml 漂白劑加 90ml 水）10-15分鐘。取出果莢在未切開前先以滅菌水充分洗滌。因爲完整的綠熟果其內部是呈無菌狀態的，因此未成熟種子的消毒並不需要且不得當，因爲消毒液容易傷害種子發芽能力。已裂開的成熟種子，必需經過種子的表面消毒滅菌，最常使用的消毒液爲飽和的次氯酸鈣溶液（Calcium hypochlonte）。此種消毒液之配製法如下：7克的次氯酸鈣溶於100ml的水中，充分攪拌後，過濾或小心倒出澄淸液，最好在12小時內使用。並加展著劑，使種子與消毒液能充分接觸，每100ml消毒液約加2～3滴展著劑。將飽和次氯酸鈣溶液以滅菌水稀釋5倍使用。在玻璃瓶中約裝50倍體積的消毒液（即每1ml 種子使用 50ml 消毒液），種子懸浮其中，振盪消毒15-20分鐘，以滅菌的濾紙濾除

消毒液，並以滅菌水充分洗滌，不使消毒劑殘留種子表面。

培養瓶：3 ×20cm試管—50ml培養基。

培養基：對種子發芽及發育言，以燕麥培養基（oat medium）爲佳。

表 2. 有菌發芽用燕麥培養基

Table 2 Oat medium (Clements 1979) for the symbiotic germination of orchid seeds

Complex additive	
Whole oats (rolled) blended to powder	2.5 g
Water, distilled	to 1,000ml
Solidifier	
Agar	7 g

培養基分裝於試管後，於高壓殺菌釜 121°C，滅菌15～20分鐘，靜置冷却。War MI 培養基對某些品種很適用，是 Czapek-Dox 鹽類與其他添加物之組合培養基。（Warcup 1973）。

表 3. War Ml 培養基

Table 3 War Ml medium (Warcup, 1973) for the symbiotic germination of orchid seeds

Macroelements	
Sodium nitrate, $NaNO_3$	0.3 g
Potassium phosphate, KH_2PO_4	0.2 g
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.1 g
Potassium chloride, KCI	0.1 g
Complex additive	
Yeast extract (Difco)	0.1 g
Carbon source	
Cellulose powder (Whatman Column Chromedia CF11)	20 g
Wate, distilled	to 1,000 ml
Solidifier	
Agar	10 g

培養法：經消毒的種子，連同濾紙置於培養基上，將少許（25×25×25mm）的適當根菌接種源加在濾紙邊緣，在20±3°C不照光之條件下培養。在播種的幾天後，根菌卽可侵入種子中，大約接種後48小時胚卽開始膨大，突破種皮，表示開始萌芽。胚不斷地增大形成無色的芽球體，並長出擠滿菌絲的假根（rhizoid）。在其生長點的位置開始分化形成第一片綠色葉片時，將試管移到16小時日長下培養，形成幾片葉子後開始長根。一個芽球體可能形成許多條根，其中最大的一條在偶而的情況下莖頂變成塊莖狀。實生苗以此共生菌法播種約須經 3 ～ 6 個月的培養，中途不須更換新培養基，直到可移出管外種植爲止。

另一種共生菌法如拖鞋蘭 ***Cypripediosm calceolus*, *C. macranthum*** 或 ***C. reginae***所用，介紹如下：採用成熟的種子，不需經過消毒，播種在腐殖土中，並加椰子汁或香蕉果肉、酵母菌、糖等，可引起根菌之發生，利用共生菌法，使胚萌芽。播種後約18個月，實生苗卽可達 2 ～ 3 cm 長，若移至 PH5.6 的腐殖土，僅少數實生苗可存活且發育極弱。若不經移植的實生苗，則生長快速，二年內卽可長成健壯的芽。此法亦可用於 ***C. calceolus*×*C. cordigerum***什交種。

(二)無菌法（asymbiotic germination）

自1923年 Knudson 發現蘭種子可在簡單的含糖培養基發芽後，組織培養的觀念開始大量應用於

蘭花事業中。但這些研究成果限於某些屬或某些種，非全面性。蘭種子的無菌播種法並不困難複雜，但須具備某些專業知識及技巧，這方面的資料，例如培養基的配製選擇，PH 值的調整，滅菌法，培養瓶及培養條件與方法，都可在許多的參考書籍查到。在此我們希望介紹一些較新的資料或不容易培養的蘭屬，供大家參考。

1.著生蘭 (epiphytic orchids)

大部份的熱帶蘭（包括所有的著生蘭及部份地生蘭），種子在 Knudson C 培養基都可得到很好的發芽率。

表 4. 修改的 Knudson C 培養基供無菌發芽之用

Table 4 Modified Knudson C Medium(Knudson.1946) for orchid seed germination and seedling culture

Macroelements	
Caicium nitrate, Ca $(No_3)_2 \cdot 4H_2O$	1 g
Potassium phosphate, KH_2PO_4	250 mg
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	250 mg
Ammonium sulfate, $(NH_4)_2SO_4$	500 mg
Ferrous sulfate, $FeSO_4 \cdot 7H_2O^c$	25 mg
Manganese sulfate, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	7.5 mg
Microelements	
Boric acid, H_3BO_3	0.056 mg
Molybdic acid, MoD_3	0.016 mg
Cupric sulfate (anh.), $CuSO_4$	0.040 mg
Zinc sulfate, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.331 mg
Sugar	
Sucrose	20 g
Complex additives	
Ripe banana	100—150 g
Vegetable charcoal (Nuchar C)	2 g
Water, distilled	to 1,000 ml
Agar	12—15 g

屬於這類的蘭花包括常見的嘉德利亞蘭、蕙蘭、文心蘭、萬代蘭、石斛蘭、蜘蛛蘭、鶴頂蘭、蕾麗蘭等。(Arditti, 1967, 1968, 1979; Ernst 1974, 1975, 1976, Harrison, 1968; Knudson, 1946; Werkmeister, 1970)

培養體：成熟或未成熟種子。

滅菌法：同共生菌法中所用同。

培養瓶：125ml～500ml 三角瓶，內裝1/15體積的培養基。

培養基：Knudson C 培養基廣泛地應用於播種及實生苗的培養。在含有活性炭的培養基，對發芽後的實生苗有的發育可得較好的結果，但須注意的是，活性炭會吸附某些添加物如維生素，荷爾蒙等，使之不活性化，故此類添加物之濃度須提高使用。香蕉果肉是培養發芽後的實生苗時常用的一種添加物（但却阻礙種子的萌芽），實生苗培養時活性炭常與香蕉果肉組合使用（含量視情形而定）。

培養法：20-25°C，10～14 小時日長條件下培養。經數週後，種子膨大轉綠開始萌芽，形成芽球體。可繼續切割繁殖，若不切割則發育成苗體。得自綠熟果的未成熟種子培養較成熟種子培養爲佳，除了可減少授粉後子房發育所需的時間外，更可以省去種子消毒的手續；對某些品種而言，更是只有未成熟種子的培養才得以萌芽。

2.地生蘭 (terrestrial orchid)

前面已提過地生蘭和蘭菌共生的情形較著生蘭密切，種子發芽前已有蘭菌侵入的跡象。蘭菌的感染是否爲促進發芽的一種重要原因？至今尙無證據。但由地生蘭和蘭菌共生遠較著生蘭密切的情形下，可推想到種子發芽與蘭菌寄生有重要關係。地生蘭的無菌播種，對大多數的種屬而言，是遠較著生蘭困難，是否蘭菌扮演重要角色？如蘭菌分解發芽抑制物質，蘭菌提供發芽促進物質或發芽必須的營養，酵素或維生素之類的活性物質？至今尙無此方面的研究報告。由於研究者的努力，對相當困難的地生蘭種子無菌發芽，已能克服其中一二，但非十全十美，發芽率和發芽期離經濟理想尙遠，有待繼續努力。現將重點介紹於下：

(1)蕙蘭屬 Cymbidium (Hagiya and Fujita, 1968; Kako, 1968; Kano, 1965; 1967, 1968 a, b, 1971 a, b, Kano and Goi, 1964; Nagashima, 1978; Sagawa and Namba, 1974, 1976; Sawa and Torikata, 1968; Ueda and Torikata, 1976)

這一屬種類很多，溫帶性地生蘭如臺灣報歲，觀音素心蘭、四季蘭等以及日本春蘭、寒蘭等，均不易無菌發芽。陽明山平等里一帶，因氣候涼爽的關係已形成大量栽培報歲、素心蘭的中心，彼等均以傳統分株方法繁殖，因目的在於分株繁殖，故開花後以切花出售，以保持母株體力。到春初便分株移植，促新芽的發育。此法繁殖速度過於緩慢，無法大規模經濟栽培，如能無菌播種，再配合地下莖的大量繁殖及芽體分化的人爲控制（王,1981），必能快速繁殖。

(2)未成熟種子的培養（陳，1982; Hagiga and Fujita, 1968; Kako 1968; Kano 1965; 1967, 1968 a. b, 1971 a.b, Kano and Goi, 1964; Nagashima, 1978, Sagawa and Namba, 1974‘ 1976; Sawaand Torikata 1968; Ueda and Torikata, 1976)

難發芽種子之所以不容易發芽的原因，有種皮的不透水（或氣體），含有發芽抑制物質或胚未能完全成熟等種種原因，前二者原因的形成與成熟度有關。越成熟種子，越進入難發芽狀態；換言之，未成熟種子較容易發芽。臺灣報歲一類屬於本省低中海拔的原生種或其交配種，均屬於此一類難發芽型。臺灣報歲授粉後第五〜七個月，便能播種成功。（陳，1982; 王邱.1983)

培養體：5〜7 月齡的未成熟種子。

滅菌法：用沙拉脫刷洗果莢，浸在75%酒精 1 分鐘，再浸於 1 % S. H. C20分鐘，並以滅菌水充分洗滌。

培養瓶：1.5×8cm 試管〜7ml 培養基。

培養基：Knudson C 加 Ms 微量元素之固體培養基

堆養法：將果莢縱剖成二半，用鑷子刮取果內未成熟種子（不需再消毒種子）置於栽養基上，在20-25°C, 2000 lux 下培養。約經二個月後的培養，便開始陸續發芽成地下莖，發芽不整齊，但發芽後地下莖發育很快。地下莖的分枝繁殖，取每一小片段（約0.5cm）繼代培養，可得驚人數量，再經移到分化培養基（王，1981）便長成芽體且發根成苗。

溫帶系蕙蘭地下莖分化莖葉之條件（王1981)

種　類	基本培養基	添加物	生長素	其他條件
觀音素心	Knudson C 及 L.S. 微量元素	Adenine 10 ppm	BA 3〜5ppm (絕對) NAA 0.1ppm	暗處分化莖葉，分化之後移至含有 arginine 50 ppm, BA 3ppm 培養基莖葉生長後照以連續光照、培養溫度在23〜25°C爲宜
玉華蘭	Knudson C 及 L. S. 微量元素	Adenine 10ppm	BA 1〜3ppm (絕對) NAA 0.1ppm	暗或明處分化莖葉，分化後移至含有arginine 50 ppm 或 Bacto tryptone 1g/l, BA 1ppm 。培養溫度以 25〜28°C 爲宜
九華蘭	Knudson C 及 L.S. 微量元素	Adenine 10 ppm	BA 3〜5ppm(絕對) NAA 0.1ppm	在暗處分化莖葉之後移至含有Bacto tryptone 3 g/l BA 3 ppm，培養溫度20〜23°C爲宜
四季蘭	Knudson C 及 L.S. 微量元素	Adenine 10 ppm	BA 1〜3ppm (非絕對) NAA 0.1〜1ppm	較易分化莖葉，分化後在含有 BA 1 ppm arginine 50ppm，之培養基培養，連續光或16小時日長，25〜28°C
報歲蘭	1/3主要鹽濃度 M.S. 之培養基，加 L.S. 微量元素	Adenine 10ppm	BA 1〜3ppm (非絕對) NAA 0.1〜1ppm	極易分化莖葉，分化後在不含BA或 1 ppm BA 培養基培養溫度在25〜28°C

表 5. 各地生蘭投粉到可播間日數 (Fast, 1980, Frosch, 1980, Jones and Scully, 1977, Sagawa and Valmayor, 1966, Sauleda, 1976.)

Table 5 Interval between pollination and growth of immature embryos in vitro

Species	Interval (days)	Species	Interval (days)
Aerides odoratum	150—180	Oncidium altissimum	110—140
Ansellia species and hybrids	150—180	O. ampliatum	45—50
Ascocenda	120—150	O. bahamense	65—70
A. hybrids	120—190	O. baueri	110—140
A. cv Mem. Jim Wilkin × Vanda cv patricia Lee	90—150	O. carthagenense	180—240
Ascocentrum	110—180	O. cavendishianum	180—240
Brassavola	120—150	O. cebolleta	110—130
B. cucullata	75—80	O. flexuosum	110—140
B. nodosa	70—75	O. jonesianum	110—130
Brassocattleya	130—180	O. kramerianum	
Brassolaelioeattleya	130—180	O. lanceanum	
Broughtonia	60—75	O. leochilum	90—120
B. sanguinea	32—34	O. limminghei	65—70
Cattleya bifoliate group	110—150	O. lucayanum	75—80, 100—180
C. bowringiana	75—80	O. luridum	150—180
C. bowringiana	55—60	O. luridum×O. papilio	95—100
C. elongata	130—180	O. cv M. P. de Restrepo	110—140
C. labiata group	80—85	O. maculatum	130—170
C. loddigesii	85—90	O. microchilum	90—120
C. skinneri	80—85	O. papilio	90—120
C. violacea	120—150	O. papilio × O. luridum	65—70
C. unifoliate group	140—180	O. pulchellum	180—240
Chysis	140—180	O. retemeyrianum	90—120
Cirrhopetalum	280—360	O. sanderae	110—140
Cymbidium	30	O. sphacelatum	130—170
Cypripedium	150—270	O. splendidum	30—35, 110—130
Cyrtopodium	60—65	O. stipitatum	110—130
Dendrobium cv Bali	55—60	O. teres	65—70
D. cv	160—250	O. terapetalum	65—70
D. A. Spalding×D. striotes	55—60	O. urophyllum	65—70
D. devonianum	150—180	O. variegatum	35—40
D. cv J. Thomas	150—180	Orchis morio	240—300
D lituiflorum	120—140	Paphiopedilum	120—150
D. nobile and its hybrids	55—60	Phajus	70—75
D.cv E. Kawamoto×D. gouldii	150—200	Phalaenopsis cv Chieftain	75—80
D. stratiotes and its hybrids	150—200	P. cv Doris	75—80
D. superbum and its hybrids	160—250	P. cv Elizabethae	110—120
Doritaenopsis	90	P. hybrids	110—120
Doritis pulcherrima	65—70	P. species	75—08
Encyclia	130—180	P. stuartiana×Phalaenopsis amabilis	130—150
Epidendrum	100—120	Potinara	150—180
E. atropurpureum	150—160	Renanthera	70—75
E. tampense	70—75	R. cv R.B. Chandler	120—180
Laelia anceps	120—150	Rhyncholaelia	150—250
L. cinnabarina	110—120	Rhynchostylis	110—130
L. flava	110—120	Rodiguezia	110—150
L. harpophylla	110—120	Sophrocattleya	110—150
L. perrinii	120—180	Sophrolaelia	75—100
L. purpurata	120—180	Sophronitis	70—75
L. rubescens	120—150	Vanda cv Burgeffi	70—75
L xanthina	120—180	V. cv E. Noa×V. suavis	70—75
Laeliocattleya hybrids	120—180	V. cv M. Foster	150—195
Maxillaria	120—140	V. hybrids V. cv H. Paoa	70—75
Miltonia candida	120—140	V. luzonica×V. sanderiana	70—75
M.clowesii	120—140	V. cv Patricia Lee×Self	120—150
M. flavescens	120—140	V. cv Patricia Lee×Ascocenda cv Mem. Jim Wilkins	90—150
M. spectabilis	120—140	V. species	150—195
Odontoglossum	80—90		

表 6. 日本產東亞蘭之種子發芽及實生苗生育之培養條件

Table 6. Culture condition's for seed germination and seeding growth of Japanese Cymbidium species

Species	Temperature	Illumination Duration (hr)	Illumination Intensity (lux)	Remarks
Cymbidium goeringii (C. virescens)	25—26°C 25°C 25—30°C	12—16 Dark 16	2,000—3,000 5,000—7,000 (daylight plus fluorescent)	Cap flask tightly with a rubber stopper which is impervious to air until seeds germinate(about 300days). Then replace the stopper with one which allows for air movement.
C. gyokuchin	20—38°C	Continuous		
C. gyokuchin × C. kanran	No data	No data		
C. kanran	24—32°C	16	4,000—6,000 (daylight plus fluorescent)	
C. sinense	Room temp. spring to autumn; mln. 20°C in winter	Natural daylength	1,000—2,000, rainy days; 10,000—20,0000, sunny days	

Ⅱ其他方法 (Hagiya, 1968; Kano, 1965,a 1968, Kako, 1968)

基於種子難發芽的原因可能在於種子的透水性（透氣性）不良，或種皮含有發芽抑制物質之假想下，曾有不少種子播種前處理的構想，其中有幾種方法確有提高發芽率及縮短發芽期之效果，種子前處理方法介紹於下：

(I) KOH 處理：將成熟種子以 0.1M KOH 處理10分鐘，或 1M KOH 處理 3 分鐘，然後以滅菌水充分水洗。

Ⅱ漂白粉溶液處理：種子浸在飽和漂白粉溶液20分鐘至1.5小時。

表 7. 漂白粉液對日本產東亞蘭種子表面消毒手續

Table 7. Surface sterilization procedures for seeds of Japanese Cymbidium species

Species	Procedure
Cymbidium goeringii (C. virescens)	Soak the seeds in calcium hypochlorite(7g/100 ml)for 20 min or 1.5hr.
C. gyokuchin	Soak the seeds in calcium hypochlorite (7g/100 ml) for 10 min.
C. gyokuchin×C. kanran	Soak the seeds in calcium hypochlorite (7g/100 ml) for 10 min.
C. kanran	Soak the seeds in calcium hypochlorite (7g/100 ml) for 10 min.

表 8. 日本產東亞蘭種子促進發芽之消毒前及消毒後處理手續

Table 8. Presterilization and posterilization procedures for seeds of Japanese cymbidium species.

Species	Treatment: Presterilization	Treatment: Poststerilization
Cymbidium goeringii (C. virescens)	Soak ripe seeds in 0.1 M KOH for 10 min or in 1 M KOH for 3 min.	Soak in sterile distilled water.
C. gyokuchin	Soak ripe seeds in 0.1 M KOH for 5 min.	Soak in sterile distilled water for 5hr.
C. gyokuchin×C. kanran	Soak ripe seeds in 0.1 M KOH for 5—7 min.	
C. kanran	Soak ripe seeds in 0.1 M KOH for 10 min or 1 M KOH for 5 min.	
C. sinense		Soak in sterile distilled water for 5hr.

培養體：成熟種子，並經前處理（表8）

滅菌法：同未成熟種子培養。

培養瓶：各種試管或三角瓶均可。

培養基：Hyponex 培養基適合春蘭類。Kmdson c 修正培養基適合寒蘭。

表 9. 花室培養基

Table 9. A-47. Hyponex medium for the germination of Calanthe species

Macroelements	
Hyponex	3 g
Sugar	20, 30, or 35 g
Sucrose	
Complex additive Peptone or tryptone	2 g
Darkening agent	
Activated charcoal	2 g
Sclidifier	
Agar	8, 10, 12, or 15 g
Water, distilled	to 1,000 ml

表 10. 寒蘭播種的培養基（Sawa 和 Namba, 1974）

Table 10. Knudson C medium (Knudson, 1946) modified for the germination of Cymbidium kanran Seeds

Macroelements		Pyidoxine • HCI	0.1 mg
Calcium nitrate, Ca $(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	1 g	Thiamine • HCI	0.1 mg
Potassium phosphate, KH_2PO_4	250 mg	Ascorbic acid	0.1 mg
Magnesium sulfate, $MgSo_4 \cdot 7H_2O$	250 mg	Amino acids	
Ammonium sulfate, $(NH_4)_2SO_4$	500 mg	Arginine	5 mg
Ferrous sulfate, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$	25 mg	Asparagine	5 mg
Manganese sulfate, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	7.5 mg	Sugar	
Microelement[b]		Sucrose	30 g
Boric acid, H_3BO_3	1.0 mg	Solidifier	
Vitamins		Agar	17 g
Nicotinic acid	0.1 mg	Water, distilled	to 100 ml
Riboflavin	0.1 mg		

培養法：播種後約經2～6個月的培養，發芽成地下莖，一年以後長芽和根。若想提早芽體分化，將地下莖頂切除後移到如下的培養基：

表 11. Knudson C 修改培養基供蕙蘭地下莖分化（Ueda, Torikata. 1976）

Table 11. Modified Knudson C medium (Knudson. 1946) as used for plantlet differentiation of Cymbididium goeringii (Ueda and Torikata, 1976)

Macroelements		Sodium molybdate, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25mg
Calcium nitrate, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	1 g	Copper sulfate, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025mg
Monopotassium phosphate, KH_2PO_4	250 mg	Hormone	
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	250 mg	Kinetin	10 mg
Ammonium sulfate, $(NH_4)_2SO_4$	500 mg	Amino acid	
Ferrous sulftae, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$	25 mg	L-Arginine	174 mg
Manganese sulfate, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	7.5 mg	Sugar	
Microelements		Sucrose	20 g
Manganese sulfate, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	25 mg	Solidifier	
Boric acid, H_3BO_3	10 mg	Agar	12—15g
Zinc sulfate, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	10 mg	Water, distilled	to 1,000 ml

(2)拖鞋蘭 Cypripedium

拖鞋蘭屬溫帶性地生蘭，被認為種子極難發芽（Curtis, 1936, 1937, 1943; Harvais, 1973; Muick, 1978; Withner, 1953）。在培養過程中，須特別小心操作。目前只有少數文獻發表，且各種之間方法各異，（無菌法或共生菌法），整理如下：

I. Cypripedium acaule

培養體：成熟種子 (Curtis, 1936)

滅菌法：飽和次氯酸鈣溶液浸種消毒15～20分鐘。

培養瓶：1.5－2×20cm試管，三角瓶或其他容器。

培養基：Curtis Solution 5 固體培養基。

表 12. 拖靴蘭 (Cypripedium acaule) 播種培養基

Table 12. Curtis solution 5 for Cypripedium acaule seed germination (Curtis, 1936)

Macroelements	
Potassium phosphate, KH_2PO_4	120 mg
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	260 mg
Ammonium nitrate, NH_4NO_3[a]	220 mg
Calcium nitrate, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	350 mg
Iron	
Ferric phosphate, $FePO_4$[b]	3 mg
Sugcr	
Glucose	10 g
Solidifier	
Agar	14 g
Water, distilled	to 1,000 ml

培養法：在弱光，20～24°C 下培養。播種後約經 4 個月即可形成 3 mm 長的無色芽球體。此種蘭發芽率極低，實生苗的發育差。若先以液體培養45天，或許可提高發芽率。

Ⅱ Cypripedium Calceolus (Muick, 1978)

見共生菌法部份。

Ⅲ Cypripedium macranthum

同 C. Calceolus，見共生菌法部份。

Ⅳ Cypripedium Parviflorsum

同 C.acaule

Ⅴ Cypripedium reginae

此種可用共生菌法如C. Calceolus, C. macran thum；亦可利用無菌法 (Harvais, 1973) 。

培養體：成熟種子。

滅菌法：請參見本文第78頁成熟種子滅菌法。

培養瓶：2 ×15cm 試管～10ml 培養基。

培養基：如下組成：

表 13. 拖靴蘭 (Cyp. reginae) 播種及發芽小苗發育的培養基

Teble 13. Medium for seed germination and seedling culture of Cypripedium reginae (Harvais, 1973)

Macroelements		Copper sulfate, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.5 mg
Calcium nitrate, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	400 mg	Vitamins	
Potassium phosphate, KH_2PO_4	200 mg	Niacin	5 mg
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	200 mg	Pantothenic acid	0.5 mg
Potassium nitrate, KNO_3	200 mg	Pyridoxine	0.5 mg
Potassium chloride, KCI	100 mg	Thiamine	5 mg
Ammonium nitate, NH_4NO_3	400 mg	Complex additive	
Iron		Potato extract	100 ml
Ammonium feric citate	25 mg	Sugar	
(5 mg/liter Fe)		Sucrose	10 g
Microelements		Solidifier	
Manganese sulfate, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	0.5 mg	Agar	10 g
Boric acid, H_3BO_3	0.5 mg	Water, distilled	to 1000 ml
Zinc sulfate. $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.5 mg		

培養法：在 25°C，不照光之條件下培養較照光效果爲佳，大約12～14週後即可發芽，形成芽球體上發育成苗。此後七個月內實生苗之死亡率高，至12月齡之實生苗須移到12小時日長下培養。若在培養基中添加0.2%之石墨可造成暗效果而提高發芽率；或在液體培養基中浸種45天後，亦可提高發芽率。

(3)粉蝶蘭 Habenaria (Platanthea) (Luer, 1975, Harvais, 1974)

培養體：成熟種子。

滅菌法：請參見本文第78頁成熟種子滅菌法。

培養瓶：2 ×15cu 試管～10ml 培養基。

培養基：Platanthea dilatata, P. obtusata, P. psychides 使用的培養基同拖鞋蘭屬中的 C. reginea。P. hyperborea 須加5克的 Casamino acid.

培養法：25° C，暗培養。成苗後移至12小時日長，2000 lux 的條件下培養。大約培養 8 個月後，P. hyperborea 有54%萌芽；培養 9 個月後，P. obtusata 有21%，P. Psychodes 有10%；培養10個月後，P. dilatata 32%發芽。

(4)兜舌蘭 Paphiopedium (Burgeff, 1936; Liddell, 1953; Thomale, 1954; Yamada, 1952)

培養體：10月齡之未成年熟種子爲佳，成熟種子亦可。

滅菌法：請參見本文第78頁成熟種子滅菌法。

培養瓶：三角瓶，試管均可。

培養基：如下組成：

表 14. 兜舌蘭種子發芽及寄生小苗生長培養基

Table 14. A Medium RE for Paphiopedilum seed germination and seedling culture

Macroeicmeuts		Fructose(levulose)	20 g
Ammonium sulfate, $(NH_4)_2SO_4$	150 mg	Darkening agent	
Ammonium nitrate, NH_4NO_3	400 mg	Vegetable charcoal	2 g
Potassium nitrate, KNO_3	400 mg	Complex additive	
Potassium phosphate, KH_2PO_4	300 mg	Ripe banana	100 g
Magnesium nitrate, $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	100 mg	Water, distilled	to 1000 ml
Calcium nitrate, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	150 mg	Solidifier	
Ferrous sulfate, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$	25 mg	Agar	16 g
Sugar			

培養法：在 1000～3000 lux，20～25° C，14小時日長的條件下培養。培養 1～3 個月後，胚便開始膨大，表示開始萌芽。4～6 週後胚轉綠，再經 4～8 週即形成芽球體。發芽後的實生苗應移到含有香蕉果肉及活性炭之培培基。8～10個月後約可達 5 cm 高。

(5)豚蕊蘭 Rhynchostylis (Kaewbamrung, 1967)

培養體：成熟種子。

滅菌法：請參見本文第78頁成熟種子滅菌法。

培養瓶：試管或三角瓶均可。

培養基：播種用 Burgeff Egl 修正培養基，實生苗培養用修正 vw 培養基。

表 15. 豚蕊蘭種子發芽培養基

Table 15. Burgeff's Eg 1 medium as used for the germination of Rhynchostylis gigantea seeds (Kaewbamrung, 1967)

Macroelemeuts		Sucrose	20 g
Calcium nitrate, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	1 g	Complex additive	
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	250 mg	Coconut water from semi-mature fruits	200 ml
Ammonium sulfate, $(NH_4)_2SO_4$	250 mg		
Ferrous sulfate, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$	20 g	Water, distilled	to 1000 ml
Potassium phosphate, KH_2PO_4	250 g	Solidifier	
Dipotassium phosphate, K_2HPO_4	250 g	Agar	12 g
Sugar			

表 16. 豚蕊蘭種子發芽後幼苗生長用培養基

Tabld 16. Vacin and Went medium as used for seedling culture of Rhynchostylis gigantea (Kaewbamrung, 1967)

Macroelements		Complex additives	
Potassium nitrate, $KNO_3 \cdot 4H_2O$	525 mg	Ripe banana	2 half slices/ culture vessel
Potassium phosphate, KH_2PO_4	250 mg		
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	250 mg	Potato extract	250 ml
Ammonium sulfate, $(NH_4)_2SO_4$	500 mg	Coconut water from semi-mature fruits	200 ml
Manganese sulfate, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	7.5 mg		
Tricalcium phosphate, $Ca_3(PO_4)_2$	200 mg	Water, distilled	to 1000 ml
Iron		Solidifier	
Ferric tartrate, $Fe_4(C_4H_3O_5) \cdot 4H_2O$	28 mg	Agar	8 g
Sugar			
Sucrose	20 g		

培養法：種子在 Burgeff Egl 修正培養基發芽後，移到實生苗培養用的培養基，每6個月移植一次，直到移出管外爲止。

無性繁殖法

㈠組織培養法

傳統的無性繁殖——分株法在此不提，只介紹組織培養無性繁殖的方法，莖頂或其他具有分生能力組織的無菌培養。因爲植物生長素及各種營養需求的基本資料，越來越多，已能在人工營養的培育下大量繁殖。雖然至今無法得證大量繁殖的個體均具有親本同樣的遺傳表現（關於遺傳安定性的問題，將在結論處詳予討論），組織培養繁殖方法至今仍爲蘭無性繁殖最理想的方式。有關此類繁殖方法之研究，自1960年起便已在各大學，研究所以及私人蘭公司大學進行，惟成果的發表型式，因基於各單位不同的利害關係，而有詳細並且負責任的發表交代，或詳細但不甚負責任的交代（此類報告常常無法重現），不詳細但負責的報告（此類報告無從重覆試驗），不詳細而且不負責任的報告等，均可見於各種刊物。至於私人公司的研究成果大都秘而不宣。蘭組織培養方法是高度技術密集的方法，學習者最好有蘭科植物形態學，解剖學，生理學等學識之外，還須要一些化學的，細菌學的常識，否則卽使學成之後，也很難有進一步的發展。

各屬（或種）栽培蘭，其組織培養繁殖法介紹如下：

(1)賽布袋蘭Brassocaltleya (Kako,1973; Scully, 1967)

此類蘭因有極大的育種價值，所以報告也多。

培養體：取長成的新芽，長約15cm，其第三側芽較好，其他側芽亦能够培養。

滅菌法：芽浸在20% Clorox 5分鐘，除去葉片露出腋芽後，再以同濃度的 Clorox 消毒10分鐘。

培養瓶：50ml 三角瓶中放 5ml 培養液；或口徑1.5cm，長 18cm 試管中放 5ml 培養液（以後均簡寫爲 50ml 三角瓶～5ml 液體，試管～5ml 液體）。

培養基：第一階段用修正的MS 培養基液體，另加$0.1 mgl^{-1}$ NAA 或2,4—D（在此不用IAA）。第二階段培養用同種培養基固體，另加 $10 mgl^{-1}$ 2,4—D, $10 mgl^{-1}$ Kinetin 以及含有½體積的CM。

表 17. 賽布袋蘭分生組織培養的培養基

Table 17. Modified Murashige-Skoog (1962) medium for the culture of Brasso cattloya moristem (Morel, 1970)

Macoelements		Auxin	
Ammonium nitrate, NH_4NO_3	1.65 g	IAA or NAA	1 mg
Potassium nitrate, KNO_3	1.9 g	Cytokinin	
Calcium chloride, $CaCl_2$ $2H_2O$	440 mg	Kinetin	2.60 mg
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370 mg	Amin acid	
Potassium phosphate, KH_2PO_4	170 mg	Glycine	20 mg
Iron chelate		Vitamin	
Na_2 EDTA	37.3 mg	Thiamine (Vitamin B,)	0.1 mg
Ferrous sulfate, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$	27.8 mg	Complex additive	
Microelemeuts		Coconut water from immature (green) nuts	100-250 ml
Boric acid, H_3BO_3	6.2 mg		
Manganese sulfate, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	22.3 mg	Sugar	
Zinc chloride, $ZnCl_2$	3.93 mg	Sucrose	30 g
Potassium iodide, KI	0.83 mg	Water, distilled	to 1000 ml
Sodium molybdate, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25 mg	Solidifier	
Copper sulfate, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025 mg	Agar	10-15 g
Cobalt chloride, $CoCl_2 \cdot 5H_2O$	0.025 mg		

培養法：將包著分生組織的葉片除去，露出最小一片葉子，以利刀切下 1～2mm³ 大小的分生組織（含有 1～2 片幼葉），置於上述第一階段液體培養基，靜止培養。一個月後移到同樣的培養基，繼續培養三個月。然後移植到第二階段的固體培養基培養，誘導癒合組織的形成。最後階段移植到 Knudson C 培養基使成小苗。此法培養長成的癒合組織是由表皮細胞而來。

表 18. 賽布袋蘭發根及小苗生長的培養基

Table 18. Modified Knudson C (1946) medium for rooting and plantlet formation

Macroelents		Molybdic acid, MoO_3	0.016 mg
Calcium nitrate, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	1 g	Cupric sulfate, anhydrous, $CuSO_4$	0.040 mg
Monopotassium phosphate, KH_2PO_4	250 mg	Zinc sulfate, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.331 mg
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	250 mg	Sugar	
Ammonium sulfate, $(NH_4)_2SO_4$	500 mg	Sucrose	20 g
Ferrous sulfate, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$	25 mg	Water, distilled	to 1000 ml
Manganese sulfate, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	7.5 mg	Solidifier	
Microelements			
Boric acid, H_3BO_3	0.056 mg	Agar	12-15 g

2.嘉德麗亞蘭 Cattleya (Arditti, 1974; Arditti et al, 1971, 1972; Ball et al; 1971; Bergman, 1972 a, b; Champagmant and Morel, 1969; Champagnat, Morel, and Mounetou, 1970; Churchill, Arditti, and Ball, 1971, 1972; Churchill, Ball, and Arditti 1973; Churchill et al, 1971; Inchihaski and Kako, 1973; Kukulczanka, 1969, 1970; Lindemamc, 1967 a, b; Lindemann, Gunckel, and Davison, 1970; Lis, 1970; Marston and Voraurai, no date; Morel 1964 a, 1965 a, b, 1971 a, b; Reinert and Mohr, 1967; Scully, 1967)

栽培蘭之中嘉德麗亞屬算是最有經濟價值的蘭，因此研究報告最多，方法各異。現將較具代表性的（也可以說較有信用的）介紹於下：

(1)新芽莖頂培養法（王，1970）

培養體：新芽長約 3cm，切下含有兩片葉原體之分生組織，大小約為 1～2 mm×2mm。

滅菌法：同塞布袋蘭。

培養瓶：試管—5ml 固體（第一階段），50ml三角瓶—20ml 固體（第二階段）。

培養基：第一階段用修正的 MS 培養基液體，另加 $0.1mgl^{-1}$ kinetin 及 $1mgl^{-1}$ NAA，15% CM。第二階段用同樣固體培養基，不含 CM。

培養法：培養初期將切下之分生組織（含1～2片葉原體）置於固體培養基上，另加1～2mm厚度的滅菌水，使培植體在固體培養基上自由滾動，移動位置，。培養開始到10天之間，每天將培植體移動位置使代謝物擴散而不致毒害自己。經過10日，移植到新培養基，同樣的每天移動一下培植體的位置。約經2～3個月，便長出芽球，移到 50ml 三角瓶中第二階段的培養，使長成幼苗。如欲繼續繁殖，便在固體培養基上加 1～2mm 滅菌水，將芽球切割，每塊大小不得小於2mm×2mm。初期培養宜在20～25°C，100 lux 光强下。第二階段培養在25～28°C，2000 lux 光强下才能得到健康苗體。

(2)加古（1973）的方法：

培養體：生長中新芽，不在休眠者。

滅菌法：95%酒精浸一下，再以蒸餾水洗滌，然後在0.4～0.5%漂白粉溶液中20～30分鐘，最後投入大量滅菌水中。

培養瓶：螺旋蓋的小瓶子中含有一些培養基（正確數字不明），或三角瓶（大小不明）。

培養基：初期用液體培養，組成如下：

表 19. 嘉多麗雅分生組織第一階段培養的培養基

Table 19. Starting medium for the culture of Cattleya explants (Lindemann et al., 1970)

Maoroelements		Alumini uium chloride, $AlCl_3$	0.031 mg
Ammonium sulfate, $(NH_4)_2SO_4$	1000 mg	Nickel chloride, $NiCl_2$	0.017 mg
Calcium nitrate, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	500 mg	Potassium iodide, Kl	0.099 mg
Potassium chloride, KCl	1050 mg	Auxin	
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	120 mg	Naphthaleneacetic acid, NAA_d	0.1 mg
Potassium phosphate, KH_2PO_4	135 mg	Cytokinin	
Iron citrate, $FeC_6H_5O_7 \cdot 3H_2O$	5.4 mg	Kinetin	0.2 mg
Mioroelents		Complex additive	
Zinc sulfate, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.565 mg	Coconut water	150 ml
Boric acid, H_3BO_3	1.014 mg	Sugar	
Manganese sulfate, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	0.068 mg	Sucrose	0.500 g
Cupric sulfate, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.019 mg	Water, distilled	to 1000 ml

中期用液體培養基，成份如下：

表 20. 嘉多麗雅芽球繁殖的培養基

Table 20. Standard maintenace medium for proliferating callus cultures of Cattleya (Lindemann et al., 1970)

Macroelements		Thiamine HCl (vitamin B_1)	0.34 mg
Ammonium sulfate, $(NH_4)_2SO_4$	1000 mg	Niacin(nicotinic acid)	1.22 mg
Calcium nitrate, $Ca(CO_3)_2 \cdot 4H_2O$	500 mg	Biotin	0.024 mg
Potasium chloride, KCl	1050 mg	Amiuo acids	
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	120 mg	Glutamic acid	15.0 mg
Potassium phosphate KH_2PO_4	135 mg	Asparagine	13.0 mg
Iron citrate, $FeC_6H_5O_7 \cdot 3H_2O_b$	5.4 mg	Nuoleotides	
Microelements		Guanylic acid	182.0 mg
Zinc sulfate, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.565 mg	Cytidylic acid	162.0 mg
Boric acid, H_3BO_3	1.014 mg	Hormones	
Manganese sulfate, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	0.068 mg	Naphthaleneacetic acid(NAA)	0.18 mg
Cupric sulfate, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.019 mg	Gibberellic acid (GA_3)	0.35 mg
Aluminium chloride, $AlCl_3$	0.031 mg	Kinetin	0.22 mg
Nickel chloride, $NlCl_2$	0.017 mg	Complex additive	
Potassium iodide, Kl	0.099 mg	Coconut water	50-150 ml
Viamins		or	
Calcium-d-pantothenate	0.48 mg	Casein hydrolysate	100 mg
Pyridoxine, HCl(Vitamin B_6)	0.21 mg	Sugar	
Inositol(myo or iso)	18.0 mg	Sucrose	20 g
Folic acid	4.4 mg	Water, distilled	to 1000 ml

後期用修正的 KnudsmC 培養基，此爲發根培養基，同塞布袋蘭的發根培養基。

培養法：取分生組織（大小不明），初期置於液體培養基旋轉培養。約經 2 個月後或培植體生長到直徑 2 mm 時，移到第二種中期培養液，使快速生長。此時每個月可切割一次快速繁殖，最後移植到發根培養基，使得到幼苗。(3)Morel (1970) 的方法：

現將不同於上述二法者介紹於下：

培養體：5～15cm新芽，切取 5 mm大小分生組織（可能含有 3～6 片葉原體）。

培養基：不詳，可能使用和塞布袋蘭同樣培養基，另加0.5～1mgl⁻¹ IAA（或NAA），CM 若干，另加 glutamine，asparagine，Peptone 或 Casein hydrolysate 等（份量不詳）。

培養法：廻轉速度爲 2 rpm，在沒有光線，25～30° C下培養。

(4)Reinert等人 (1967) 的方法：

培養體：新芽長成後的最下位潛芽，除去包著的葉片露出分生組織，取出 1～3 mm^3 大小的分生組織。

滅菌法：潛芽浸在 5 % Clorox 10分鐘，然後浸在70%酒精中 5 分鐘，最後移到 8 %漂白粉澄清液中消毒20分。

培養瓶：125ml 三角瓶—20ml。

培養基：開始在修正的 knudsonC培養基液體培養（不含 kinetin 和 myo-inositol），後期在同樣培養基，但含 $1mgl^{-1}$ Kinetiu，$100mgl^{-1}$ myo-inositol 之固體培養基。

培養法：在 1 rpm 轉速培養，日長16小時，2000 lux 光强，溫度24～28° C等條件下培養三個月，然後移植到固體培養基。以上方法可以得到75%成功率，在 3～6 星期之內將可發育成 3～6 mm 大小之組織。在第二階段的固體培養，芽球快速生長。

(5)Scully (1967) 的方法：

培養體：新芽長 1～8 cm，取 1～2 mm^3 分生組織。

滅菌法：20% Clorox 浸 5 分鐘，除去葉片之後再消毒10分鐘。

培養瓶：50ml 三角瓶— 5 ml 液體，50ml 三角瓶—20ml 團體培養基。

培養基：修正的 Vacin 和 Went (1949) 液體培養基爲主。

表 21. 嘉多麗雅莖頂培養的培養基

Table 21. Modified Vacin and Went (1949) medium for the culture of explants from vegetative shoots of Cattleya (Scully, 1967)

Macroelements		Suar	
Tricalcium phosphate, $Ca_3(PO_4)_2$	200 mg	Sucrose	20 g
Potassium nitrate, KNO_3	525 mg	Complex additive	
Potassium phosphate, KH_2PO_4	250 mg	Coconut water	250 ml
Ammonium sulfate, $(NH_4)_2SO_4$	500 mg	Water, distilled	to 1000 ml
Ferric tartrate, $Fe_2(C_4H_4O_6)_3$	28 mg	Solidifier	
Manganese sulfate, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	7.5 mg	Agar	9 g
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 4H_2O$	250 mg		

培養法：取出 1～2 mm^3 分生組織，在液體培養基振盪二至五週後，形成芽球體，將之切割移植在固體培養基上，六至八週內形成發根的幼苗。在此著者强調，初期的培養必須是液體培養基，並且要振盪培養。

(6)由葉基部組織培養成無性苗 (Champagnant ot al，1970)

培養體：無菌發芽的實生苗葉基部組織，該組織包含腋芽分生組織。

培養瓶：直徑 5 cm 的培養皿或三角瓶。

培養基：組成如下，另加 1 mgl^{-1} Kinetin

表 22. 嘉多麗雅葉基部培養的培養基

Table 22. Culture medium for Cattleya leaf bases (Champagnat, morei, and Mounetou, 1970)

Macroelements		Nickel chloride, $NiCl_2 \cdot 6H_2O$	0. 30 mg
Ammonium sulfate,$(NH_4)_2SO_4$	1 g	Potassium iodide, KI	0.010 mg
Potassium chloride, KCI	1 g	Soiution B	
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	125 mg	Ferric chloride, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$	1 mg
Calcium nitrate, $Ca(NO_3) \cdot 4H_2O$	500 mg	Cytokinin	
Potassium phosphate, KH_2PO_4	125 mg	Kinetin	1 mg
Mioroelemeuts of Heller		Sugar	
Solution A		Sucrose	20 g
Zinc sulfate, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	1 mg	Water, distilled	to 1000 ml
Manganese sulfate, $MnSO \cdot 4H_2O$	0.010 mg	Solidifier	
Copper sulfate,$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.030 mg	Agar	8 g
Aluminium chloride, $AICI_3$	0.030 mg		

培養法：在固體培養基上，腋芽發育成單一個體，等發育到肉眼可以辨認的大小，使用鑷子除去，讓多數不定芽長出。

(7)開花成株葉尖培養法 (Churchill, Arditti, and, Ball, 1971, 1972; Churchill, Ball, and Arditti, 1973；Churchill, Flick, et al, 1971；Ball et al, 1971；Arditti et al, 1971, 1972)

培養體：成株新葉的葉尖。

滅菌法：飽和漂白粉溶液中浸10分鐘。

培養瓶：125ml 三角瓶。

培養基：修正的 Heller 培養基。

表 23. 嘉多麗雅幼葉葉尖培養培養基

Table 23. Modified Heller's medium for the culture of tips from young leeves of mature Cattleya plants (Churchlii, Arditti, and Ball, 1971)

Macroelements		Nickel chloride, $NICl_2 \cdot 6H_2O$	0.03 mg
Potassium chloride, KCl	750 mg	Potassium iodide, KI	0.01 mg
Sodium nitrate, $NaNO_3$	600 mg	Auxin	
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	250 mg	2,4-D	1 mg
Monosodium phosphate,	125 mg	Cytokiuiu	
$NaH_2PO_4 \cdot H_2O$		6-Benzyl amino purine	500 mg
Calcium chloride, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$	75 mg	(benzyl adenine)	
Iron		Vitamins	
Ferric chloride, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$	1 mg	Thiamine (vitamin B_1)	1 mg
Microelements		Sugar	
Boric acid, H_3BO_3	1 mg	Sucrose	30 g
Zinc sulfate, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	1 mg	Water,distilled	to 1000 ml
Manganese sulfate, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	0.01 mg	Solidificr	
Cupric sulfate, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.03 mg	Agar	10 g
Aluminium chloride, $AICl_3$	0.03 mg		

培養法：將葉尖15～25cm 切下，經滅菌後再切下 4 ～ 5 mm 長的葉尖，在液體培養基直線往復振盪（每分鐘60次來回）培養，22～25° C，18小時日長，光源為40W植物燈和 2 盞50～100lux 鎢絲燈成 1500lux 光强。初期在修正的 Heller 液體培養基，大約45日後葉尖開始細胞分裂，但不久該原

始組織褐變死亡，而由傍長出芽球體。芽球形成之後如在MS或LS固體培養基時，部份芽球體分化成幼苗，但大多數都繼續快速繁殖。

表 24. 嘉多麗雅芽球繁殖的培養基

Table 24. Linsmaler-Skoog (1965) medium for the maintenance of callus cultures derived from Cattleya leaf tips

Macroelemenls		Copper sulfate, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025 mg
Ammonium nitrate, NH_4NO_3	1.65 g	Cobalt chloride, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025 mg
Potassium nitrate, KNO_3	1.9 g	Folyol	
Calcium chloride, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$	440 mg	myo Inositol	100 mg
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370 mg	Cytokinin	
Potassium phosphate, KH_2PO_4	170 mg	Kinetin	0.1 mg
Chelated iron		Auxin	
Na_2EDTA	37.3 mg	Indoleacetic acid,IAA	2 mg
Ferrous sulfate, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$	27.8 mg	Vitamin	
Microelements		Thiamine HCI(vitamin B_1)	0.4 mg
Boric acid,H_3BO_3	6.2 mg	Sugal	
Manganese sulfate, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	22.3 mg	Sucrose	30 g
Zinc sulfate, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	9 mg	Water, distilled	to 1000 ml
Potassium iodide, Kl	0.83 mg	Solidifier	
Sodium molybdate, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25 mg	Agar	10 g

如移至 Knudson C培養基，使大都發育成幼苗體。此法成功機率不高，癒合組織的形成是靠葉尖未分化的細胞或已有的分生組織，所以，如果切取的葉尖不含這類組織便不能成功。此法的優點在於不需犧牲整個新芽。

3.蕙蘭 Cymbidium

在此所指蕙蘭乃熱帶性大型蕙蘭，俗稱東亞蘭或虎頭蘭之類；而非溫帶性之蕙蘭如東北亞所產之小型蕙蘭之類。此類蕙蘭是所知最容易培養者，組織培養最先成功的例子也是這類蕙蘭。東亞蘭在本省曾風靡一時，可惜因多數品種在本省開花率低或甚至不開花，必需從選種著手，將適合本省栽培的品種以組織培養法快速大量繁殖，以達目的。已發表文獻有 Bivins and Hackett, 1969; Champagnat et al, 1966, 1968; Fonesbech, 1972 a, b; Freson and Vanseveren, 1968; Gripp, 1966; Leffring, 1968; Matsui et al, 1970; Morel, 1960, 1963, 1964 a, b, 1965 a, b, 1971 a; Penningsfeld and Fast, 1968; Rutkowski, 1971; Sagawa, Shoji and Shoji, 1966; Steward and Mapes, 1971; Tompson, 1971; Ueda and Torikata, 1968, 1969 a, b, 1972; Vacherot, 1966; Werckmeistec, 1970, 1971; Wilfret, 1966; Wimber, 1963。

(1)假莖芽的培養 (Morel, 1960, 1964 a,b, 1970)

培養體：假莖上的潛芽，取出帶有1～2葉原體之分生組織。

滅菌法：75%酒精數秒鐘，再以飽和漂白粉溶液消毒20分鐘，並以無菌水充分洗滌

培養瓶：試管或三角瓶均可。

培養基：Knudson C固體培養基。

培養法：於22°C，12小時日長下培養，在固體培養基上約兩個月長成1～2mm的白色芽球體，芽球經切割成二或四，在一個月內形成多數芽球體，並在同一培養基上發育成幼苗。此法在一年之內可繁殖4,000,000個體。

(2)莖頂分生組織培養 (Sagawa et al, 1966)

培養體：5～7.5cm長的新芽分生組織。

滅菌法：除去葉片露出腋芽後，浸在5% Clorox 5～8分鐘，再將腋芽上的葉片除去，露出附有

1～2片葉原體的分生組織，再浸在1% Clorox 3分鐘。

培養瓶：50ml 三角瓶—15ml 培養基。

培養基：knudson C培養基或 Vacin and Went (1949) 液體。

表 25. 蕙蘭莖頂分生組織培養的培養基

Table 25. Vacin and Went (1949) medium for the culture of Cymbidium shoot-tip meristems (Sagawa, Shoji, and Shoji, 1966)

Macroelements		Microelement	
Tricalcium phosphate, $Ca_3(PO_4)_2$	200.0 mg	Mangane sulfate, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	7.5 mg
Potassium nitrate, KNO_3	525.0 mg	Sugar	
Potassium phosphate, KH_2PO_4	250.0 mg	Sucrose	20.0 g
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	250.0 mg	Water, distilled	to 1000 ml
Ammonium sulate, $(NH_4)_2SO_4$	500.0 mg	Solidifies	
Ferric tartrate, $Fe_2(C_4H_4O_6)_3$	28.0 mg	Agar	16.0 g

培養法：分生組織在固體培養基上，光強 1200 lux, 24小時日長，22～25° C等條件下，振盪培養。四週後，置於同樣的固體培養基上，芽球體在六週後（四週液體，兩週在固體培養基）出現。至2～3 mm 大小的芽球即可切割，繼續繁殖。每10天可切割繁殖一次，如不經切割，芽球便發育成幼苗

(3)另一莖頂分生組織培養法 (Wimber, 1963)

培養體：3 cm 長的新芽。

滅菌法：2%次氯酸鈣溶液。

培養瓶：125ml 三角瓶—25ml 培養基。

培養基：Tsuchiya 的修正培養基液體。

表 26. 蕙蘭莖頂分生組織培養的培養基

Table 26. Culture medium for Cymbidium shoot meristems (Wimber, 1963)

Macroelements		Ferric tartrate, $Fe_2(C_4H_4O_6)_3$	300 mg
Potassium nitrate, KNO_3	525 mg	Complex additive	
Dicalcium phosphate, $CaHPO_4$	200 mg	Tryptone	2 g
Potassium phosphate, KH_2PO_4	250 mg	Sugar	
Ammonium sulfate, $(NH_4)_2SO_4$	500 mg	Sucrose	20 g
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	250 mg	Water, distilled	to 1000 ml
Iron			

培養法：植物燈1000 lux光強，22° C，迴轉式振盪器振盪培養（速度不詳）。特別强調切割分生組織要快速而正確，切出後立即置於液體培養基內培養。一個月形成芽球體，如繼續振盪培養，芽球生出芽球，可無限繁殖而不分化成葉及根。如靜止或移到固體培養基，立即長出苗體。

此外有許多方法都是大同小異，因此類蕙蘭的繁殖最容易，故在此不必再予介紹其他方法。

(4)石斛蘭 Cendrobium (Arditti, Mosich, and Ball, 1973; Kim, Kunisakei, and Sagawa, 1970; Marston, 1969; Mosich, Ball and Arditii, 1973, 1974; Mosich et ol, 1974; Sagawa and Shoji, 1967; Singh and Sagawa, 1972)

(1)莖頂分生組織培養 (Sagawa, 1967; Kim et al, 1970)

培養體：新芽長 3.7～11.5cm，重約1.1～3g，以 4.9cm 2g 的新芽成功機率最大。

滅菌法：同蕙蘭。

培養瓶：同蕙蘭。

培養基：Vacin and Went 培養基，另加 150v/v CM。

培養法：於26±3°C，2000 lux 下液體培養，轉速 160 rpm。45日後培植體開始膨大，三個月後形成芽球體。繼續培養2½月便可再切割繁殖。

(2)節芽培養 (Arditti et al, 1973; Mosich et al, 1973, 1974)

培養體：植株的健康狀態是左右成功的關鍵。10～15cm 高的莖上節芽，分爲上中下三部份各佔⅓部份。

滅菌法：除去所有附著物（包括葉片及乾葉鞘）露出節芽後，用軟刷子，沙拉脫輕輕刷淨表面，水洗後以3％ Clorox 滅菌，上位消毒5～7分鐘，中段10～15分，下段20～25分鐘。

培養瓶：2.5×18cm 試管中裝 20ml 培養基。

培養基：初期使用 knop 修正培養基，其中 trans-Cinnamic acid 份量視情形而變）。後期在 MS 培養基長根。

表 27. 石斛蘭節芽培養的培養基

Table 27 Modifiedknops medium as used for the culture of Dendrobium node sections (Mosich, Balll, and Arditti, 1974)

Macroclements		Na_2EDTA	0.8 mg
Calcium nitrate, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	500 mg	Anti-auxin	
Potassium nitrate, KNO_3	125 mg	trans-Cinnamic acid	150, 15, or 1.5 mg
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	125 mg		
Potassium phosphate, KH_2PO_4	125 mg	Vitamin	
Iron		Thiamine(vitamin B_1)	0.4 mg
Ferric citrate, $FeC_6H_5O_7 \cdot 3H_2O$	10 mg	Cytokinin	
Micsoelemeuts		6-Benzyl amino purine (benzyl adenine)	2.0 mg
Boric acid, H_3BO_3	0.056 mg		
Manganese chloride, $Mncl_2 \cdot 4H_2O$	0.036 mg	Sugar	
Zinc chloride, $ZnCl_2$	0.152 mg	Sucrose	20 g
Cobaltous chioride, $CoCl_2$	0.02 mg	Water, distilled[1]	to 1000 ml
Copper chloride, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$	0.054 mg	Solidifier	
Sodiummolybdate, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.025 mg	Agar	13 g
Ferric chloride, $Fe_2Cl_3 \cdot 6H_2O$	0.5 mg		

培養法：在 1500 lux, 16小時日長（鎢絲燈及植物燈合用），22～25°C下培養。芽切下後將切面置於培養基上（不可顚倒），輕壓將芽體陷入培養基內約½。芽體在四週後發育，45日後長成無根的芽體。約1.5～2cm 高時，便移植到後期發根用培養基，2～3週後長根成苗。成功率可達75～100％。培養體可以來自老莖。此法至今只能一節長出一棵苗。

(3)花梗培養法 (Singh, 1972)

花梗芽的培養有其獨特的意義，開花後的花梗是一種廢棄物而花梗上有許多節芽可供培養。

培養體：花萎凋後的花梗。

滅菌法：用沾有95％酒精的紗布擦淨花梗，切下每節浸在10％ Clorox 15分鐘。取出將苞葉去除，再浸10％ Clorox 溶液10分鐘，最後以滅菌水充分洗滌泡3分鐘。

培養瓶：2.5×10cm 試管—12ml 培養基。

培養基：Vacin anp Went 修正培養基（參照蝴蝶蘭花梗培養的培養基）

培養法：自距節芽1～1.5cm處切下，直插入培養基中直到節芽剛好在培養基表面上。培養於23～29°C，2000 lux 下，數月之後便長出根。但成功機率不高。

5.蕾麗蘭Laelia (Knko, 1773)

同賽布袋蘭。

6.賽蕾麗蘭 Laeliocattleya (Kako, 1973)

同賽布袋蘭。

8.堇花蘭 Matania (Morel, 1960, 1963, 1964a, 1965b, 1970)

同蕙蘭。

8.大花文心蘭 Odontoglossum (Morel, 1960, 1963 1964a, 1965b, 1970)

同蕙蘭。

9.文心蘭 Oncidium

(1)莖頂分生組織培養

可比照蕙蘭或嘉德利亞蘭的方法。

(2)花梗頂芽培養 (Fast, 1973)

培養體：花梗頂端尙休眠中的芽。

滅菌法：除去葉鞘，浸在酒精然後通過火焰使酒精燃燒，快速浸在5%漂白粉溶液，振盪消毒10分鐘。

培養瓶：3×18cm試管—10ml液體培養基，蓋上棉花，或兩個洞分別塡充棉花的橡皮塞。或25～50ml三角瓶以同樣方法封口。

培養基：Knudson C修正培養基（液體或固體）供誘導癒合組織之發生；半鹽濃度之MS培養基或MS培養基和Knudson C等量混合（液體或固體），供癒合組織繁殖用；另以同樣培養基加番茄或香蕉果肉，爲分化苗體的培養基。

表 28 文心蘭花梗芽培養的培養基

Table 28 knudso C (1946) medium modifiedfor the cuiture of Oncidium (Fast 1973)

Macroelements		Microelements	
Ammonium sulfate, $(NH_4)_2SO_4$	1 g	Boric acid, H_3BO_3	1 mg
Calcium nitrate, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	500 mg	Zine sulfate, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	1 mg
Potassium chloride, KCl	250 mg	Manganese sulfate, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	0.01 mg
Potassium phosphate, monobasic, KH_2PO_4	250 mg	Cupric sulfate, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.03 mg
		Aluminum chloride, $AlCl_3$	0.03 mg
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	250 mg	Nickel chloride, $NiCl_2 \cdot 6H_2O$	0.03 mg
Iron chelate, Fe-EDTA	25 mg	Potassium iodide, KI	0.01 mg

培養法：在20～24°C下培養，若爲液體培養基，以5 rpm 廻轉培養。約4～8週後形成癒合組織或芽球體，芽球可分離獨立培養。六個月後芽球大量繁殖，如移至含有香蕉或番茄培養基便可發根成苗。

10.兜舌蘭 Paphiopedium

未有眞正成功的報告。(Morel, 1974)

11.蝴蝶蘭 Phalaenopsis

本屬在本省是最重要的蘭花之一，單莖類蘭（包括萬代蘭，豚蕊蘭，亞斯高仙達蘭）的培養較困難。自1963年起著者便開始做種種可能部位的培養，共有根尖，子房、花梗芽、葉尖、自花梗芽生長的葉片，花梗芽分生組織、胚培養等等；除了花梗芽苗葉片及胚培養，可得極低成功率之外，沒有大量繁殖成功的紀錄。本來此屬中有若干種是可以自然地自根表面分化小苗 (P. schilleriana, P. Stuartiana) Ano nymous, 1885, Scuely, 1971)，或自花梗節芽長出小苗 (P. luddemaniana)。傳統方法有將花梗切下扦插於水苔上而長出幼苗的方法，此法成功機率很低。近有在試管內扦插花

梗的方法，其成功機會很高，唯一問題在於花梗不容易完全滅菌。莖頂或花梗芽分生組織的培養，因所含酚類化合物（Phenolic Compound）和多酚氧化酵素（Polyphenol oxidase）活性很高的原故，不易成功。實生幼苗葉片自母體切離之後，很容易由其表面分化芽球體；由開花株葉片便無此現象，採樣個體之年齡乃決定再分化之關鍵。著者認爲最有推廣價值的方法乃在培養由花梗芽扦插長成之小苗葉片的培養，介紹於下：

(1)花梗芽苗葉片的培養（王未發表）：

培養體：由花梗扦插長出之幼葉（方法參考87頁），葉長 1 cm 以內。

培養瓶：50 ml 三角瓶—20 ml 培養基。

培養基：Knudson C培養基加 $1 mgl^{-1}$ NAA 及 $1 mgl^{-1}$ Kinetin 液體培養基供初期平面廻轉培養。Knudson C 加 $0.1 mgl^{-1}$ NAA 及 $5mgl^{-1}$ Kinetin 固體培養基供後期芽球形成之用。

培養法：將葉片切成尖端及基部兩段，置液體培養基中，160 rpm 廻轉培養三日後取出；面向上平放在固體培養基，在12小時日長，100 lux，25° C下培養。約經 3 ～ 6 個月後，葉片略呈黃化現象，然後從葉表皮部份凸起形成芽球，其分化位置似無規則，可由葉緣、葉尖、或葉基部長出，整個葉片終於長滿瘤狀物，發育成無數芽球狀體。如加以切割移植於含有 Tryptrone $3gl^{-1}$ 的 Knudson C 培養基，可繼續繁殖；如移至含有 75 gl^{-1} 香蕉果肉，3 gl^{-1} 活性炭的 Knudsonc 培養基，便長成苗體。

(2)花梗芽的培養（Intuwong et al, 1972）

培養體：取剛開花不久的花梗成功機會較大，如係老花梗（花已全開）成功機會較小。

滅菌法：用95%酒精浸數秒鐘，再用10% Clorox 消毒10分鐘；除去節上苞葉再以 5 % Clorox 浸10分鐘後，投入滅菌水中。

培養瓶： 1 ×10cm 試管—1.2ml 培養基。

培養基：Vacin aud Went 修正培養基，如石斛蘭花梗培養時所用。

培養法：在 2000 lux，24小時日長，23—29° C等條件下靜止培養。約一個月後芽體便開始生長，二個月即可發根。花梗上位的節芽易長成花梗，可以再培養其基部的節芽育成幼苗。

表 29 蝴蝶蘭花梗節芽培養的培養基）

Table 29 Modified Vacin and Went (1949) medium used for the culture of Phalaenopsis stal kcuttings (lntuwong, Kunisaki, and Sagawa, 1972)

Macroelemens		Micsoements	
Tricalcium phosphate, $Ca_3(PO_4)_2$	200mg	Manganese sulfate, $MnSO_4 \cdot 2H_2O$	5.7 mg
Potassium nitrate, KNO_3	525mg	Sugar	
Potassium phosphate, KH_2PO_4	250mg	Sucrose	20 mg
Magnesium sulfate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	250mg	Water, distilled	to 1000 ml
Ammonium sulfate' $(NH_4)_2SO_4$	500mg	Solidifier	
Ferric tartrate, $Fe_2(C_4H_4O_6)_3$	28 mg	Agar	9 g

(3)莖頂分生組織培養（Intuwong et al, 1974）

前已提過由於蝴蝶蘭莖頂含有很高的酚類化合物，而其氧化產物（由於多酚氧化酵素的活性）滲透在培養基裡，不但培養體易褐化，培養基也黑化終使培植體致死。至今尙無適當方法控制其氧化現象，另有夏威夷大學的 Sagawa 一派人（包括 Intuwong 等人）成功地培養出來。（著者註：此一派人曾發表不少極難培養的蘭種，但其中有部份不易被重現，曾被人指責有不實的報告）。

培養體：具有 6 ～ 7 葉片的成株或自花括梗養的苗，去除片後取出 2 ～ 3 mm^3大小的分生組織，此培養體包括 2 ～ 4 片葉原體和 2 ～ 3 個腋芽。

滅菌法：10% Clorox。

培養瓶：50ml 三角瓶—20ml 培養基。

培養基：Vacin and Went 培養基用來花梗培養，VW 培養基加15% CM 用來培養分生組織，固體培養基中除去醣的培養基是用來培養芽球樣體（protocorm-like body）

培養法：在24小時日長，2000 lux（日光燈），26±2°C，160 rpm 等條件下液體旋轉培養。每10日更換一次培養基共三次，移植到不含糖的固體培養基，多次的移植到無糖的固體培養基的結果，將產生多數的假莖狀體，此等假莖體將發育成苗體。（著者註：無糖培養基經我們實驗室追試，結果並沒有那麼大神效）。此一派人並沒有交代清楚什麼時候開始用含糖培養基。

(4)花梗節芽的培養（（Arditti, et al, 1975; Reisinger et al, 1976）

本法之特點在於培養基中添加抗 Auxin 物質。

培養體：成熟花梗，上位節芽成功率較高。

滅菌法：去苞葉，在含 Tween 的水中刷洗表面後，再以以50%消毒 4～6 分鐘並以水充分洗滌。

培養瓶：2.5×15～20 cm 試管，125 ml 或250三角瓶。

培養基：以石斛蘭節芽培養的培養基爲主，添加以下的抗生長素物質（anti-auxin）

Ⅰ 1.48mgl^{-1} TCA 供頂端及基部花梗培養。

Ⅱ 14.8mgl^{-1} TCA 供中間一段花梗培養。

Ⅲ 13mgl^{-1} iso leucine

Ⅲ 將微量元素部份以培養嘉德利亞蘭葉尖培養（Churchill, 1971等）培養基的微量元素取代。

培養法：1500 lux，16小時日長，22～25°C下培養。約經一個月便可長出芽體，三個月後發根，半年後卽可移出。此法只能由一花梗節芽長出一苗。

(2)豚蕊蘭Rhynchostylis（Vairabhaya, et al, 1970）

培養體：頂芽和腋芽分生組織。

滅菌法：同蕙蘭所用（Sagawa, at al, 1966）

培養瓶：2.1×17cm 試管—3.5ml 培養基。

培養基：同石斛蘭及嘉德利亞蘭所用之培養基。

培養法：在2000～3000 lux，14小時日長，24～27°C 下培養。第一週大部份培養體都會膨大，2～4 週後少數部份長出新組織，但多數褐變死亡。培養三個月後，30個個體中之 1 個形成直徑 10mm 的癒合組織，連續切割移植可大量繁殖，如不切割便發育成苗。

13. 萬代蘭 Vanda

在泰國及夏威夷等地，萬代蘭是商業上很重要的花卉，本省花市較少見，可能由於冬天溫度過低的原故。萬代蘭和蝴蝶蘭一樣甚難培養。曾有 Morel（1970）試過以M S培養基培養出癒合組織，但沒有繼續分化成芽體。

(1)莖頂分生組織培養（Kunisaki, 1972）

培養體：莖頂分生組織。

滅菌法：表面用10% Clorox 消毒10分鐘，除去葉鞘後用 5 % Clorox 浸 3 分鐘。

培養瓶：同蕙蘭（Sagawa, 1966）

培養基：初期用 Vacin and Went 培養基加 150V/VCM，癒合組織形成之後（中期）改用無糖的同樣培養基，後期加上10～20gl^{-1} 糖便能分化成苗。

培養法：在2000 lux, 26±3°C, 160 rpm 下液體迴轉培養。培養體在初期培養基膨大，而在中期培養基繁殖，後期培養基發根而育成苗。

(2)莖腋芽培養 (Sagawa, 1967)

培養體：莖切成45～50mm 供用。

滅菌法：10% Clorox 20～30分鐘做表面消毒，除去葉鞘後露出腋芽，再用10% Clorox 消毒20～30分鐘。（因這部份已老化可耐如此久的消毒），用刀片割除3～4mm 因滅菌而漂白的切口。

培養瓶：2.5×10cm 試管—3ml 培養基，125ml 或 250ml 三角瓶—25～50ml 培養基。

培養基：Vacin and Went 培養基。

培養法：扦插用的插穗長度爲4～5cm，芽位置在離基部⅔處。直插在培養基上，芽點離培養基平面約1cm。培養2～3個月後卽可發根成苗，80%可成功。花梗節芽亦可成功，但機率小。

四、結論及討論

以上所介紹繁殖法中，有些是比較容易再現的（意謂照同樣方法可得相同結果），但有些是極難再現的。前已提過，科學報告中也有不負責的發表，一位指導教授常有指導10個至20個學生論文者，而學生爲了想如期畢業，便僞造實驗結果，指導教授若沒有身歷其境，很容易受騙而將不實的報告公諸於世。另有一種報告是屬於商人的騙局，照他的方法無法重現，但在其研究室却可看到實實在在成功的繁殖體。商業性的研究報告常把關鍵性的重點秘而不宣，或根本不是以發表的那種方法進行培養，而是以另一種方法達成目的的。例如蝶蝴蘭分生組織培養的成功報告，曾有多人追試，結果無法重現。但眼看蘭公司一批批出售分生苗，而這些分生苗開花之後，證明確爲無性繁殖苗無誤。這種情形可解釋如下：第一種情形，公司把重點保留，讓追試者無法重現；第二，根本不是分生苗，而是由種子癒合組織繁殖分化而來，（王，1971）。但也有追試者其試驗枝術上的缺失，而發生不能重現的例子。如藥品不純，水中雜質，瓶子鹼性物質溶出而改變培養基 PH 值或成份，蓋子有害成份溶出，光線不當，組織消毒不當（濃度過高或時間過久而早已傷及組織），高壓殺菌時間或壓力錯誤而使培養基成份分解等等微妙因素，都會令追試者無法得到滿意的結果。

關於蘭菌的利用，曾有人想到無菌繁殖的蘭苗，如能在瓶內接種蘭菌，而後移出瓶外假植，將會有較好的成績。由前人的研究結果了解，此一構想理論上應是對的，問題在於必須分離純粹培養適合該種蘭的蘭菌。如爲原生種蘭（如本省報歲蘭），最適合之蘭菌應該由原生蘭根分離出來的蘭菌，而交配種應試驗多種不同系統的蘭菌經詳細比較之後，才能確定其效果。蘭的栽培者多使用農用殺菌劑的情況下，蘭菌寄生新根的機會越來越少，著者實驗室栽培的多種蘭，已很難找到蘭菌。

組織培養無性繁殖法不論是分生苗，麥片苗或子房苗（由未受精子房壁長出），都會有變種出現。尤其繼代培養過久過多的苗，變異機會愈大。組織培養癒合組織分化時，很容易發生變異，這在染色體數目上很容易證明—常有染色體多出或減少數條，或加倍減半，甚至於斷裂遺失一條染色體的一部份等情形，都會使生長後的表現型發生變異。當然這些變異能够遺傳到下一代。變異的表現有形狀，線條（金線）等，當中最影響商品價值的是葉子形狀和花的變化，例如東亞蘭分生苗開花後，發現有花變小，花瓣加厚，花色變化等情形。石斛蘭也有同樣的報告（Vadrabhaya, 1974）。如果這種變異之中有繁殖較快的變異，不出幾次移植培養，這種變異細胞就會佔有整個群細胞的大半數，甚至於全由這類細胞所取代，這樣繁殖出來的蘭苗全是變異體，繁殖愈多變異機率愈大的理由在此。變異發生頻率的高低要看該種屬遺傳安定性的程度。例如在本省以莖頂分生組織大量繁殖的嘉多麗雅蘭 Ambev Glow 種除了極少數有花瓣畸形的報告之外未見有重大變異（此花瓣畸形很可能非遺傳變異而是栽培上問題）。著者經葉片大量繁殖的蝴蝶蘭紅心白瓣品種（彩色圖21）雖大量繁殖亦未見有些微的變化。無意中把患有毒素病的個體大量繁殖出去，是組織培養大量繁殖應警惕的事。因爲一般商業性的分生組織培養，爲了提高成功率，其開始時候的培植體都會取得很大，通常會附有3～4片葉原體（或幼葉），這樣培養出來的再生苗，如母體患有毒素病，其分生苗也會帶有毒素病，因爲繁殖速率很高，此一品種罹患毒素病原的比率會大大的提高，終而全數感染，以至滅種。商業繁殖分生苗

業者應檢查母株，是否患有毒素之後供爲分生苗繁殖之用。

組織培養無性繁殖的另一個問題在於叢生苗的發生，這種苗（黑白圖24～26）有下列幾種形狀；矮肨叢生株不長大，可長根；徒長分枝孽，細長不長根等。前者多爲突變成極高倍體，如八倍體、十六倍體等。這種苗會長出很厚的葉子，很粗的根，但植株生長繁慢，整株彎曲呈畸型。另一徒長分枝的情形，很可能是移植不力，培養基裡苗積某種代謝物或培養基裡含蛋白分解物（如 Casein 水解物）或糖份過多引起。這種苗若能耐心地一株株分離扦插於含有低濃度糖（0.2％以下）的培養基，在較强光線下培養，可恢復原狀。

變異的別一種表現是鑲嵌現象（chimera），這種變異不一定能够遺傳，因不一定發生在生殖細胞，所以在多數小苗當中不難發現葉片上缺乏葉綠素的條紋，或整個半面葉子變黃，葉子不規則彎曲，或左邊葉子特別肥厚，根特別粗大等等，都是鑲嵌突變。開花後也常看到花瓣肥厚，萼片彎曲，或花色有鑲嵌花紋等。有的變異在小苗時期卽可辨認的，便能够淘汰除去，這種變異對經濟栽培者較爲幸運。如果栽培了4～5年開花之後才發現，損失可大。分生瓶苗的買賣，常引起無謂的紛爭，賣分生苗者，不應大量無限制的生產，而買苗者不應圖小利買後期繁殖的便宜苗。無限制生產同一來源的分生苗商，應明白開花後可能會有大量變種；而買後期苗者也應有冒此風險的決心。幾年來臺灣部份業者，學會「再分生技術」，將進口分生苗中取出芽球，做大量繁殖出售圖利，而引起很多爭端。本省蘭花分生苗繁殖，應自限繁殖數量，超過此數量便應自動停止繼續繁殖，如須要更多無性苗，應從頭做起，以確保品種純正。組織培養分生苗的繁殖速度太快了，生變種的機會也就隨著加大。其實傳統分株繁殖也會有變種發生，其機率遠低於由癒合組織再分化的再生苗，而且因繁殖速度很慢，所以不容易被發現罷了。

著者認爲中國蘭的經濟價值，在不久的將來將會提高，它具有洋蘭沒有的優點，如優美文雅的葉子姿態，花具有神秘高雅的幽香，植株不大不小適合中國家庭的客廳或窄小的公寓。但也必須做改良品種的工作，例如花期集中在初春及初秋，應有初夏，秋未的品種，有些品種花梗過長過短，和株高不相稱；葉落後假莖的存在妨礙美觀，該育成葉落後假莖快速萎縮消失的品種。

中國蘭的育種，自古以來皆停留在等待自然交配，自然變異，而有栽培人發現加以栽培成爲一園藝品種，這種決定完全是被動的育種方法，除了責備古代的園藝家沒有發現蘭菌的存在及無菌播種組織培養的技術之外，中國蘭種子極難人工發芽是最大原因。1963～1964年間，由於日本文部省撥款組成「蘭科植物種子與無菌發芽」研究班，由著者之一的指導教授鳥潟主持人，有系統的研究中國蘭種子發芽，始解明了不少難題，步入現代化無菌播種的階段。但是中國蘭，尤其本省所栽植的中國蘭的問題，始終沒有人研究。1982年著者等得到國科會生物中心三年研究計劃的支助，開始有系統的研究種子發芽和組織培養繁殖的問題，望能對蘭的栽培育種有所幫助。

参考文獻

王博仁，1970.蘭組織培養法，臺灣蘭藝8：21～31

——1981.蕙蘭屬的無菌播種與器官分化，中央研究院植物所專刊 p.22～30

王博仁、莊淑美，1971蝴蝶蘭多胚形成，臺灣蘭藝10：165—166

王博仁、邱金春，1983未發表。

陳惠美1982個人通訊

Anonymous. 1885. Buds out of Place. Gard. Chron., Ser. 2,25:249.

Arditti, J. 1967. Factors affecting the germination of orchid seeds. Bot. Rev. 33:1-97.

——1968. Germination and growth of orchids on banana fruit tissue and some of its extracts. Amer. Orchid Soc. Bull. 33:112-116.

——1979. Aspects of the physiology of orchids. Adv. Bot. Res. 7:421-655. Academic

Press, London.

——1974. Seed germination and tissue culture of orchids. Proc. Sym. on Modern Methods in Propagation, Hybridizing and Culture of Orchids, Prague, P. 1-32.

Arditti, J. , E. A. Ball, and M-E. Churchill. 1971. Propagacion clonal de orquideas utilizando apices de hojas. Orquideologia (Colombia) 6:113-117, 129-133, 135.

——1972. Propagacion clonal de orquideas utilizando apices de hojas. Orquidea (Mexico) 2:29.-300.

Arditti, J., E. A.Ball, and D.M. Reisinger. 1975. Cultivo de yemas del escapo floral: un metodo para la propagacion vegetativa de phalaenopsis Orquidea (Mexico) 5:242-254.

Arditti, J.,S.K.Mosich, and E. A. Ball. 1973. Dendrobium node cultures: a new means of clonal propagation. Aust. Orchid Rev. 38:175-179.

Ball, E.A. ,J. Arditti, and M-E. Churchill. 1971. Clonal propagation of orchids from leaf tips. Orchid Rev. 79:281-288.

Bergman, F. J. 1972a. Shoot tip multiplication of orchid clones, Part I. The status of "meristem" propagation through 1971. Amer. Hort. 51 (2):20-23.

——1972b. Shoot tip multiplication of orchid clones, Part II. The status of "meristem" propagation through 1971. Amer. Hort. 51 (3):41-44.

Bernard, N. 1903. La germination des orchidees.Comp. Rend. Acad. Sci. Paris 137:483-485.

——1909. L'evolution dans la symbiose. Ann. Sci. Nat. Bot 9:1-196.

Bivns, J.L., and W.P. Hackett. 1969. The effect of mediu m and wounding techniques on aseptic culture of Cymbidium orchids from shoot apices. Plant Propagator 15:9-14.

Burgeff, H. 1909. Die wurzelze der Orchideen. Fischer, Jena.

——1936. Samen eimung der Orchideen. Fischer, Jena.

——1959. Mycorrhiza of orchids, p. 361-395. *In* C. L. Withner (ed.), The orchids: A scientific survey. Ronald Press, New York.

Champagnat, M., and G. Morel. 1969. Multiplication vegetative des ***Cattleya*** a partir de bourgeons cultivees ***in vitro***. Soc. Bot. Fr. Memoires 116:111-132.

Champagnat, M., G. Morel, P. Chabut, and A.M. Cognet. 1966. Recherches morphologiques et histologiques sur la multiplication vegetative de quelques orquidees du genre ***Cymbidinm***. Rev. Gen. Bot. 73:706-746.

Champagnat, M., G.Morel, G.Gambade.1968. Particularites mophologiques es pourvoir de regeneation du ***Cymbidinm virescens*** cultive ***in vitro***. Soc. Bot. Fr., Memoires 115:236-244.

Champagnat, M., G. Morel, and B. Mounetou. 1970. La multiplication vegetative des ***Cattleya*** a partir de jeunes feuilles cultivees aseptiquement ***in vitro***. Ann. Sci. Nat., Ser. 12, 11:97-113.

Churchill, M.-E.,J. Arditti, and E.A. Ball. 1971. Clonal propagation of orchics from leaf tips. Amer. Orchid Soc. Bull. 40:109-113.

——1972. Propagacao clonal de orquideas a partir de apices de folha. Bol. Soc. Campineira de Orchideas 2:23-28.

Churchill, M.-E., E. A. Ball, and J. Arditti. 1973. Tissue culture of orchids. I. Methods for leaf tips. New Phvtol. 72:161-166.

Churchill, M.-E., B. H. Flick, E. A. Ball, and J. Arditti. 1971. Vermehrung von Orchideen durch Blattspitzen. Die Orchidee 22:147-151.

Curtis, J. T. 1936. The germination of native orchid seeds. Amer. Orchid Soc. Bull. 5:42-47.

——. 1937. Some phases of symbiotic and nonsymbiotic orchid seed germination. Ph.D. diss., Univ. Wisconsin, Madison.

——.1943. Germination and seeding development in five species of Cypripedium L.Amer. J. Bot. 30:199-206.

Downie, D. G. 1940. On the germination and growth of Goodyera repens. Trans. Bot. Soc. Edin. 33:36-51.

Ernst, R. 1974. The use of activated charcoal in asymbiotic seeding culture of Paphiopedilum. Amer. Orchid Soc. Bull. 43:35-38.

——. 1975. Studies in asymbiotic culture of orchids. Amer. Orchid Soc.Bull. 44:12-18.

——. 1976. Charcoal or glass wool in asymbiotic culture of orchids. Proc. 8th World Orchid Conf. Frankfurt (1975), P. 379-383.

Fonnesbech, M.1972a.Growth hormones and propagation of Cymbidium in vitro.Physiol. Plant. 27:310-316.

—— . 1972b. Organic nutrients in the media for propagation of Cymbidium in vitro. Physioi. Plant. 27:360-364.

Freson, R., and N. Vanseveren. 1968. La propagation des orchidees par la methode de culture des meristemes "in vitro." Assoc. Nat. Professeurs Biol. de Belgique 14:86-94.

Gripp, P. 1966. Cymbidium propagation. Amer. Orchid Soc. Bull. 35:4-7.

Hadley, G.,and B.Williamson. 1972. Features of mycorrhizal infection in some Malayan orchids. New Phytol. 71:1111-1118.

Hagiya, K., and T. Fujita. 1968. Effect of light and temperature on germination of Cymbidium goeringii, p. 238-244. *In* H. Torikata (ed.), Seed formation and sterile culture of the orchids. Seibundo-Shinhosha. Tokyo.

Harrison, C. R. 1968. A simple method for flasking orchid seeds. Amer. Orchid Soc. Bull. 39:715-716.

Harvais, G. 1973. Growth requirements and development of Cypripedium reginae in axenic culture. Can. J. Bot. 51:327-332.

Harvais, G. 1974. Notes on the biology of some native orchids of Thunder Bay, their endophytes and symbionts. Can. J. Bot. 52:451-460.

Ichihashi, S., and S. Kako. 1973. Studies on clonal propagation of Cattleya through tissue culture methods. I. Factors aflecting survival and growth of shoot meristem of Cattleya in vitro. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 42:364-370.

Intuwong, OJ.T.Kunisaki, and Y.Sagawa. 1972.Vegetative propagation of Phalaenopsis by flower stem cuttings. Na Okika O Hawaii-Hawaii Orchid J. 1:13-18.

Intuwong. O., and Y.Sagawa. 1974. Clonal propagation of Phalaenopsis by shoot-tip

culture. Amer. Orchid Soc. Bull. 43:893-895.

Kaewbarnrung. M. 1967. Transflasking media for Rhynchostylis seedings. Orchid Soc. Thailand Bull. 1:18-22.

Kako, S. 1973. Clonal propagation of *Cattleya* through shoot meristem culture. Japan Agric. Res. Quart. 7:109-115.

Kako, S. 1968. Studies on germination of Cymbidium goeringii, P. 174-237.In H.Torikata (ed.) , Seed forination and sterile culture of the orchids. Seibundoo-Shinkosha, Tokyo.

Kano, K. 1965. Studies on the media for orchid seed germination. Mem. Fac. Agr. Kagawa Univ. No. 20:1-68.

——. 1967. Studies on the orchid germination in an aseptic condition. X. Acceleration of the gerinination of "hard-to-germinate" orchid seeds. Proc. Japan. Soc. Hort. Sci. Conf., p. 264-265, Autumn 1967.

——. 1968a. Studies on the media for orchid seed germination, p.95-152. *In* H.Torikata (ed.), Seed formation and sterile culture of the orchids.Seibundo-Shinkosha, Tokyo.

——. 1968b. Acceleration of the germination of so-called "hard-to-germinate" orchid seeds. Amer. Orch. Soc. Bull. 37:690-698.

——. 1971a. Studies on acceleration of the germination in Cymbidum goeringii. proc. Japan. Soc. Hort. Sci. Conf., p. 220-221, Spring 1971.

——. 1971b. Seed germination of oriental Cymbidium and their shoot-tip culture. proc. 6th World Orchid Conf., p. 133-142.

Kano, K., and M.Coi. 1964. Studies on the orchid germination in an aseptic condition. VIII. Proc. Japan. Soc. Hort. Sci Conf., p. 36, Autumn 1964.

Kim, K-K., J. T. Kunisaki, and Y. Sagawa. 1970. Shoot tip culture of Dendrobium. Amer. Orchid Soc. Bull. 39:1077-1080.

Knudson, L. 1922. Nonsymbiotic germination of orchid seeds. Bot. Caz. 73:1-25.

——. 1924. Further observations on nonsymbiotic germination of orchid seeds. Bot.Gaz. 77:212-219.

Knudson, L. 1946. A new nutrient solution for the germination of orchid seed. Amer. Orchid Soc. Bull. 15:214-217.

Kukulczanka K. 1969. Sadzonki gozdzikow wolne od wiruow. Owoce, Warsaw, Kwiaty 7:12-14.

——. 1970. Rozmnazanie storczykow z tkanek merystematycznych. Ogrodnɔitwo 1:18-22.

Kunisaki, J. T., K. K Kim, and Y. Sagawa. 1972. Shoot tip culture of Vanda. Amer. Orhid Soc. Bull. 41:435-439.

Leflring, L. 1968. Vermeerdering van orchideeen door midel van meristemcultuur. Med. Dir. Tuin. 31:392-395.

Liddell, R.W. 1953. Notes on germinating *Cypripedinm* seed. Amer. Orchid Soc. Bull. 22:195-197.

Lindemann, E.G.P. 1967a. Growth requirements for meristem culture of *Cattleya* Diss. Abstr., Sect. B28:2284-2285.

——. 1967b. Growth requirements for meristem culture of *Cattleya*. Ph. D. diss.,

Rutgers Univ., University Microfilms, Ann Arbor, Mich.

Lindemann, E. G. P., J. E. Gunckel, and O. W. Davison. 1970. Meristem culture of Cattleya. Amer. Orchid Soc. Bull. 39:1002-1004.

Lis, E. 1970. Rozmnazanie storczykow metoda kultur merystemow pedowych. Postepy Nauk Rolniczych. 6:77-83.

Luer, C. A. 1975. The native orchids of the United States and Canada, excluding Florida New York Botanical Gaeden, New York.

Marston, M. E. 1969. Vegetative propagation in vitro, p.393-394. *In* W.J. Whittington (ed.), Root growth. Butterworth, London.

Matsui, T., K. Kawai, and Y. Samata. 1970. Effects of Nb-benzylaminopurine and a-naphthaleneacetic acid on the organogenesis of Cymbidium. Fac. Agric. Bull., Tamaga Univ. (Tokyo) 10:9-106.

Morel, G. 1960. Producing virus-free cymbidiums. Amer. Orchid Soc. Bull. 29:495-497.

——. 1963. La tulture *in vitro* du meristeme apical de certaines Orchidees C. R. Acad. Sci. Paris 256:4955-4957.

——. 1964a.Tissue culture-a new means of clonal propagation of orchids. Amer. Orchid Soc. Bull. 33:473-478.

——. 1964b. La culture *in vitro* du meristeme apical. Rev. Cytol. Biol. Veg. 27:304-314.

——. 1965a. Clonal propagation of orchids by meristem culture. Cymbidium Soc. News 20:3-11.

——. 1965b. Eine neue Methode erbgleicher Vermehrung: die Kultur von Triebspitzen-Meristemen. Die Orchidee 16:165-176.

——. 1970. Neues auf dem Gebiet der Meristem-Forschung. Die Orchidee 20:433-443.

——. 1971a. Les "Pleiones." Culture-multiplication. L'Orchidophile 6:8-94.

——. 1971b. The principles of clonal propagation of orchids. Proc. 6th World Orchid Conf., Sydney (1969), p.101-106.

——. 1974. Clonal multiplication of orchids, p. 169-222. *In* C. L. Withner (ed.), The orchids: scientific studies. Wiley-Interscience, New Yorh.

Mosich, S.K., E.A. Ball, and J. Arditti. 1973. Propagacion clonal de Dendrobium por medio del cultivo de nodos. Orquidea (Mexice) 3:244-260.

——. 1974. Clonal porpagation of Dendrobium by means of node cultures. Amer. Orchid Soc. Bull. 43:1055-1061.

Mosich, S. K., E. A. Ball, B. H. Flick, and J. Arditti 1974. Klonvermehrung von Dendrobium durch die Kultivierung von Stammnodien. Die Orchidee 25:129-134.

Muick, F.1978. Propagation of Cypripedium species from seeds.Amer. Orchid Soc.Bull. 47:306-308.

Nagashima, T. 1978. Studies on seed formation of Cymbidum goeringii. proc. Japan. Soc. Hort. Sci. Conf., p. 332-333, Spring 1978.

Penningsfeld, F., and G. Fast. 1968. Untersuchungen zur Meristemkultur von Orchideen in Weihenstephan. Der Erwerbsgartner-Die Deutsche Gartenbauwirtschaft 43:no pagi-nationn.

Reinert, R. A., and H. C. Mohr. 1967. Popagation of *Cattley* by tissue culturt of

lateral bud meristems. Proc. Amer. Soc. Hort. Scci. 91:664-671.

Reisinger, D.M., E. A. Ball, and J. Arditti. 1976. Clonal propagation of Phalaenopsis by means of flowerstalk node cultures. Orchid Rev. 84:45-52.

Reissek, S. 1847. Uber Endophyter der Pflanzenzelle. Naturwiss. 1:31-46.

Rutkowski, E. 1971. How meristems multiply. Amer. Orchid Soc. Bull. 40:616-622.

Sagawa, Y., and T. Shoji. 1967. Clonal propagation of dendrobiums through meristem culture. Amer. Orchid Soc. Bull. 36:856-859.

Sagawa, Y., T. Shoji. and T. Shoji. 1966. Clonal porpagation of cymbidiums through shoot meristem culture. Amer. Orchid Soc. Bull. 35:118-122.

Sawa, K., and M. Namba. 1974. Studies about the germination of Cymbidium kanran. proc. Japan. Soc. Hort. Sci. Conf., p. 296-301, Autumn 1974.

——. 1976. Apical meristem culture and seed germination in ***Cymbidnm kanran***, P.296-301. ***In*** H.Torikata (ed.), Seed formation and sterile culture of the orchids. Supple. ment. Seibundo-Shinkosha, Tokyo.

Sawa, K., and H. Torikata. 1968. Studies on germination of ***Cymbidinm***, P. 153-173. ***In*** H. Torikata (ed.), Seed formation and sterile culture of the orchids. Seibundo-Shinkosha, Tokyo.

Scully, R. M., Ir. 1967. Aspects of meristem culture in the Cattleya alliance. Amer. Orchid Soc. Bull. 36:103-108.

——. 1971. Master growers' series. February is Phalaenopsis time in Florida. Amer. Orchid Soc. Bull. 40:103-108.

Shechter, Y., and J. Arditi. 1972. The discovery of asymbiotic orchid seed germination Orchid Rev. 80:147-152.

Singh, H., and Y. Sagawa. 1972. Vegetative propagation of Dendrobium by flower stalk cuttings. Na Okika O Hawaii-Hawaii Orchid J. 1:19.

Smith, S. E. 1966. Physiology and ecology of orchid mycorrhiza fungi with reference to seedling nutrition. New Phytol. 65:488-499.

Steward, F. C., and M. O. Mapes. 1971 Morphogenesis in aseptic cell cultures of Cymbidium. Bot. Gaz. 132:65-70.

Thomale, H. 1954. Die Orchideen. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart.

Thompson, R.P.1971. Excision of a Cymbidium meristem:photographed in color. Amer. Orchid Soc. Bull. 40:580-584.

Ueda, H., and H. Torikata. 1968. Organogenesis in meristem cultures of ***Cymbidnm***. I.Studies on the effects of growth substances added to culture media under continuous illumination. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 37:240-248.

——. 1969a. Organogenesis in the meristem tissus cultures of cymbidiums. II. Effects of growths substances on the organogenesis in dark culture. J. Japan. Soc. Hort. Sce. 38:188-193.

——. 1969b. Organogenesis in meristem cultures of cymbidums. III. Histological studies on the shoot formation at the rhizome tips of ***Cymbidinm goeringii*** Reichb.f. culture ***in vilro*** J. Japan. Soc. Hort. Sci. 38:262-266.

——. 1972. Effects of light and culture medium on adventitious root formanion by

Cymbidium in aseptic culture. Amer. Orchid Soc. Bull. 41: 322-327.

Jeda, H., and H. Torikata. 1976. Organogenesis in Cymbidium, p. 309-313. *In* H. Torikata (ed.), Seed formation and sterile culture of the orchids: Supplement. Seibundo-Shinkosha, Tokyo.

Vacherot, M. 1966. Meristem tissue culture propagation of orchids. Proc. 5th World Orchid Conf., Long Beach, p. 23-26.

Vacin, E., and F. W. Went. 1949. Some pH changes in nutrient solutions. Bot. Gaz. 110:605-613.

Vajrabhaya, M., and T. Vajrabhaya. 1970. Tissue culture of Rhynchostylis gigantea, a monopodial orchid. Amer. Orchid Soc. Bull. 39:907-910.

——. 1974. Variation in Dendrobium arising in meristem, p. 231-242. Proc. 7th World Orchid Conf., Medellin, Colombia (1972), p. 231-242.

Warcup, J.H. 1971. Speciticity of mycorrhizal association in some Australian terrestrial orchids. New Phytol. 70:41-46.

——. 1973. Symbiotic germination of some Australian terrestrial orchids. New Phytol. 72:387-392.

Werchmeister, P. 1970. Uber die Lichtinduktion der geotropen Orientierung von Luft- und Bodenwurzeln in Gewebekulturen von Cymbidium. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 83:19-26.

——. 1971. Light induction of geotropism and the control of proliferation and growth of Cymbidium in tissue culture. Bot. Gaz. 132:346-350.

Wilfret, G.J.1966. Formation of protocorm-like bodies on excised Cymbidum shoot tips. Amer. Orchid Soc. Bull. 35:823-827.

Wimber, D. E. 1963. Clonal multiplication of cymbidiums through tissue culture of the shoot meristem. Amer. Orchid Soc. Bull. 32:105-107.

Withner. C. L. 1953. Germination of "Cyps." Orchid J. 2:473-477.

Yamada, M. 1952. Progress report on germination work. Hawaii Orchid Soc. Bull. 4: 24-26.

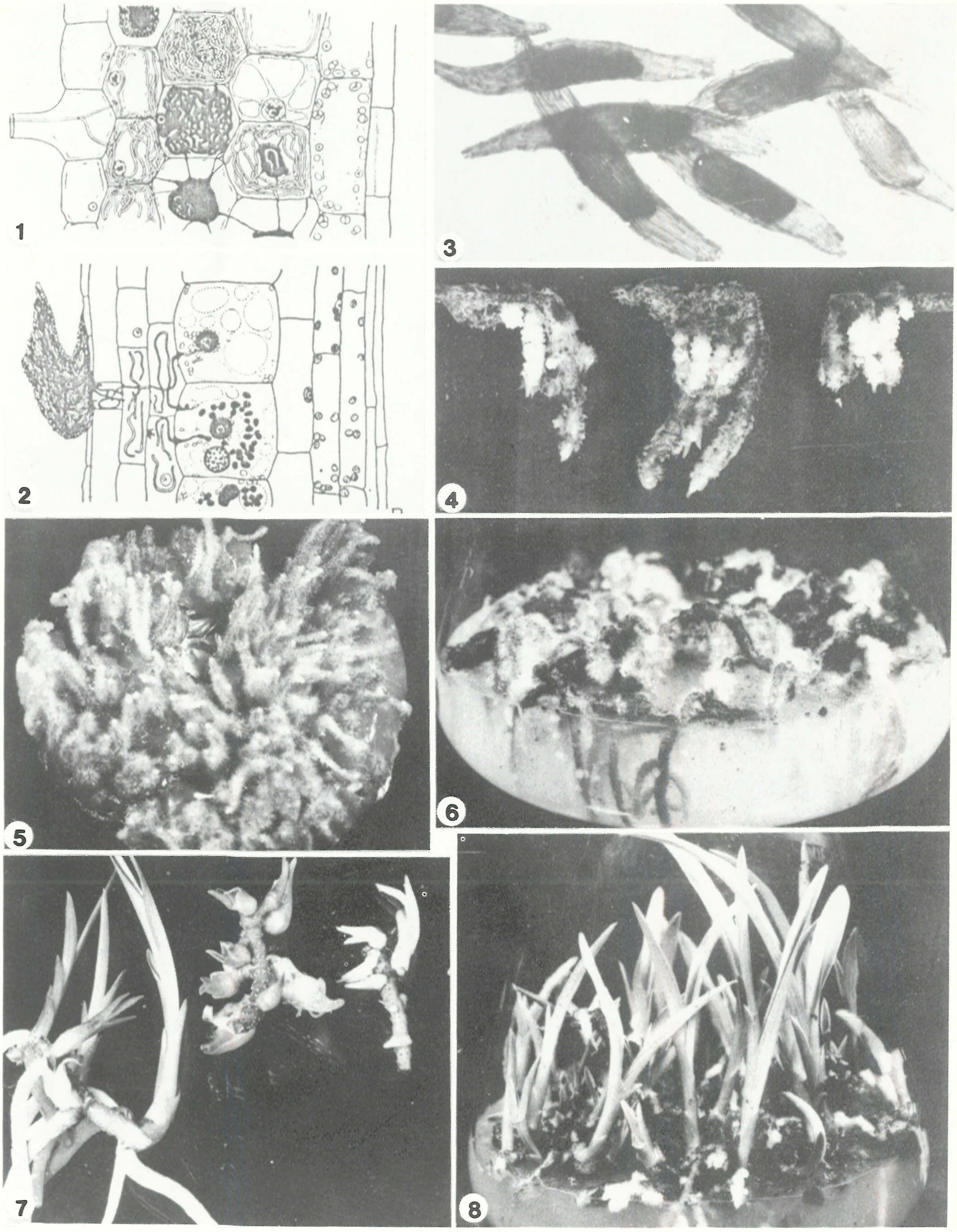
結　論

后里鄉花農問：蘭花爲何需要無菌播種使用培養基才能發芽？

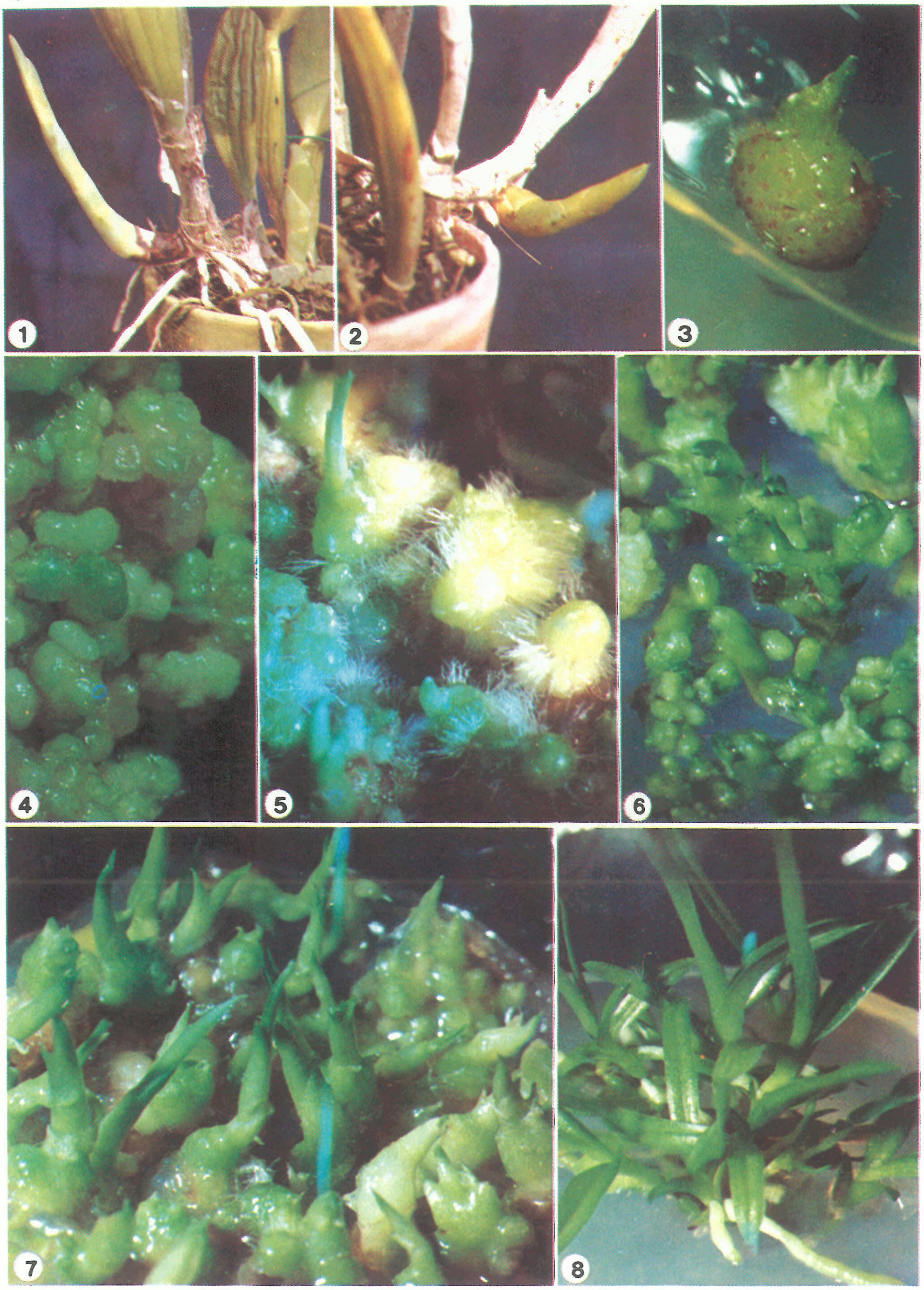
王博仁博士答：蘭花種子發芽須有蘭菌共生分解養分供其利用才能發芽，培養基乃是提供養分諸如糖、維生素、礦物元素、生長素、供種子發芽之用。

永靖鄉花農問：嘉德利亞蘭及蝴蝶蘭如何利用組織培養法繁殖？

王博仁博士答：嘉德利亞蘭可以利用分生組織如側芽等爲材料，蝴蝶蘭以叶片繁殖，以實生苗幼葉最好。



1.2. 蘭菌共生。 3. 蘭種子。 4～6. 蕙蘭的地下莖。 7.8. 蕙蘭地下莖分化莖葉並發根成苗。



1.2. 嘉德利亞蘭最適合分生組織培養的大小。 3. 剛形成的芽球。 4～9. 芽球發育成苗的過程。

10.11. 移出管外的假植。 12～15. 分生苗開的花。 16. 分生苗如繁殖過多時，常有突變體發生，此乃蕙蘭的多倍體。

17. 畸型苗常發生生長期培養於不含活性炭培養基上，在含活性炭培養基此情形較少。 18.19.21. 花梗苗葉培養形成芽球樣體而發育成小苗，此小苗在兩年後開花。 20. 地下莖分化成苗。